

**Bau, Histochemie und ontogenetische sowie
regenerative Differenzierung des Linsenauges
von *Cladonema radiatum* Duj.
(Cnidaria, Hydrozoa, Anthomedusae)**

INAUGURAL-DISSERTATION

Zur Erlangung der Philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II
der Universität Zürich

von

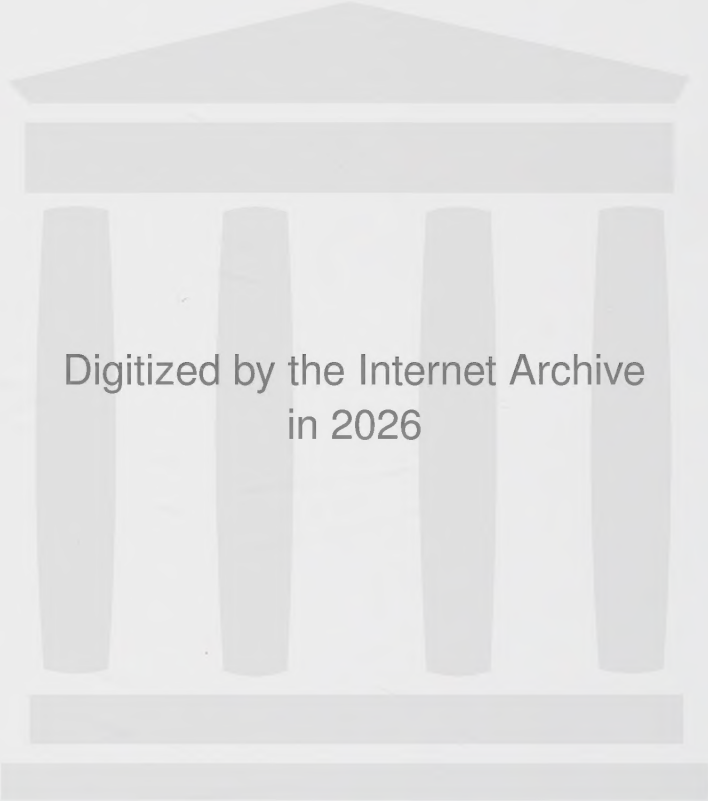
CHRISTIAN WEBER
von Egliswil und Aarau
(Kt. Aargau)

Begutachtet von Herrn Prof. Dr. P. Tardent

1980



Juris Druck + Verlag Zürich
1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

**Bau, Histochemie und ontogenetische sowie
regenerative Differenzierung des Linsenauges
von *Cladonema radiatum* Duj.
(*Cnidaria, Hydrozoa, Anthomedusae*)**

INAUGURAL-DISSERTATION

Zur Erlangung der Philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II
der Universität Zürich

von

CHRISTIAN WEBER
von Egliwil und Aarau
(Kt. Aargau)

Begutachtet von Herrn Prof. Dr. P. Tardent



Juris Druck + Verlag Zürich
1979

Ein, Mischchemie und organische sowie
organische Differenzierung des Linienungen
von Chlorophyll (Chlorophyll) (Chlorophyll, Chlorophyll)

Ein, Mischchemie und organische sowie
organische Differenzierung des Linienungen
von Chlorophyll (Chlorophyll) (Chlorophyll, Chlorophyll)



ISBN 3 260 04736 0

Für Mariann, Fanny und Fränzi

Allen, die in irgendeiner Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, möchte ich herzlich danken, ganz besonders Herrn Prof. Dr. P. Tardent für deren Leitung und sorgfältige Korrektur, aber auch für das Interesse, das er ihr stets entgegen brachte. Dank gebührt den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe für Immunbiologie am Institut für Mikrobiologie, die mir beim Erlernen der immunbiologischen Methoden behilflich waren, den Abteilungen von Herrn Prof. Dr. P.S. Chen und Herrn Prof. Dr. R. Wehner am Zoologischen Institut, deren Apparaturen ich benutzen durfte, sowie den Herren PD Dr. V. Schmid und Dr. Th. Honegger für die vielen hilfreichen Diskussionen und Ratschläge.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

1.0.0.	EINLEITUNG	1
2.0.0.	MATERIAL UND METHODEN	2
2.1.0.	Material	2
2.2.0.	Methoden	2
2.2.1.	Extirpation der Ocellen	2
2.2.2.	Identifikation der ontogenetischen Entwicklungsstadien der Meduse	3
2.2.3.	Licht- und Elektronenmikroskopie	3
2.2.4.	Histochemie	4
2.2.5.	Identifikation der Linsenproteine	4
3.0.0.	RESULTATE	7
3.1.0.	Die strukturelle Organisation des Ocellus	7
3.2.0.	Ontogenese des Ocellus	8
3.3.0.	Die regenerative Entwicklung des Linsenauges	10
3.4.0.	Histochemie und Identifikation der Linsenproteine	13
3.4.1.	Die Pigmentsynthese	13
3.4.2.	Die Genese des Linsenkörpers	15
4.0.0.	DISKUSSION	17
5.0.0.	ZUSAMMENFASSUNG	21
6.0.0.	LITERATURVERZEICHNIS	23
7.0.0.	ABBILDUNGEN 1 - 40	29

1.0.0. EINLEITUNG

Unter den rezenten, sich auf einer noch primitiven Evolutionsstufe befindlichen Invertebraten sind es die Cnidaria (Nesseltiere), die als erste vielzellige Lichtsinnesorgane ausgebildet haben, welche füglich die Bezeichnung "Augen" verdienen. Die sessilen, polypoiden Erscheinungsformen dieses Tierstammes, d.h. die Hydroidpolypen (Hydrozoa), die Scyphopolypen (Scyphozoa) und die Anthozoa zeigen wohl ein lichtbezogenes Verhalten und reagieren auf experimentell gesetzte photische Reize (Tardent and Frei, 1969; Frei, 1973; Tardent, Frei and Borner, 1976) aber die hierfür zuständigen, meist nicht identifizierten Rezeptoren (Tardent and Weber, 1976) müssen diffus über den ganzen Körper verteilt sein. Die freibeweglichen medusoiden Erscheinungsformen (Hydromedusen und Scyphomedusen), die im Rahmen der metagenetischen Generationswechsel bezüglich ihrer Architektur und dem Spezialisationsgrad ihrer Zellen eine höhere Evolutionsstufe als die Polypen vertreten, verfügen z.T. über bereits gut entwickelte Lichtsinnesorgane. Diese reichen vom einfachen Augenfleck über Becheraugen bis zum komplexen Linsenauge (Bullock and Horridge, 1965; Yamasu and Yoshida, 1973, 1976; Yoshida, 1973; Bouillon and Nielsen, 1974; Singla, 1974; Weber and Tardent, 1978). Somit sind, was als seltene Erscheinung zu werten ist, in ein und demselben Tierstamm sämtliche Stufen der zum Linsenauge führenden Evolution vertreten. Nach den vergleichenden Untersuchungen von Eakin and Westfall (1962) und Eakin (1963) gehören sämtliche bisher untersuchten Photorezeptoren der Cnidaria zum ciliären Typ, d.h. der Schaft des photosensiblen Teils der Zelle enthält ein kurzes Rudiment eines Ciliums.

Auf die histologischen Studien (Hertwig and Hertwig, 1878; Schewiakoff, 1889, Berger, 1900; Linko, 1900; Bullock and Horridge, 1965) über die zelluläre Architektur der Cnidarier-Augen sind nur rel. wenige elektronenmikroskopische Untersuchungen (Eakin and Westfall, 1962; Yamasu and Yoshida, 1973, 1976; Yoshida, 1973; Bouillon et Nielsen, 1974 Singla, 1974) durchgeführt worden, wobei sich die zitierten Arbeiten auf die Beschreibung des differenzierten Zustandes beschränkten und die ontogenetische und auch regenerative Entwicklung dieser Lichtsinnesorgane ausser acht liessen.

Die vorliegende, den Augen der benthisch lebenden Hydromeduse Cladonema radiatum Duj. (Anthomedusae) gewidmete Arbeit untersucht in Anlehnung an die Arbeit von Bouillon and Nielsen (1974) licht- und elektronenoptisch zunächst die zelluläre Architektur des ausdifferenzierten Ocellus sowie die Ultrastruktur der einzelnen Zelltypen, insbesondere der Photorezeptoren und Pigmentzellen der Retina. In einem zweiten Teil wurden die Phasen der ontogenetischen und regenerativen Differenzierung der Augen analysiert, wobei es u.a. zu prüfen galt, ob die von verschiedenen Voraussetzungen ausgehenden Entwicklungsprozesse verschiedene oder gleichartige Wege beschreiten.

Der dritte histochemische Teil der Arbeit hat sich zur Aufgabe gestellt, das in den Chromatophoren der Retina eingelagerte Pigment zu identifizieren. Die optischen Eigenschaften der Pigment-

zellen legen die Vermutung nahe, dass es sich um Melanin handelt. Dieses innerhalb des Tierreichs weit verbreitete Pigment ist unseres Wissens bei Cnidariern jedoch noch nie mit Sicherheit nachgewiesen worden. Eine weitere Reihe von elektrophoretischen und immunologischen Studien setzte sich mit der chemischen Zusammensetzung des kleinen glasklaren Linsenkörpers des Auges von Cladonema auseinander. Dabei wurden die elektrophoretisch aufgetrennten Komponenten dieses Augenteils jenen der Wirbeltierlinse vergleichend gegenüber gestellt und mit Hilfe der Immunofluoreszenz-Methode wurden eventuelle Übereinstimmungen mit den bekannten Linsen kristallinen höherer Tiere einer Prüfung unterzogen.

Diese Arbeit wurde mit Unterstützung des Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Gesuche 3.548-0.75; 3.317-0.78) durchgeführt. Herrn Dr. McDevitt (University of Pennsylvania, U.S.A.) danke ich für die Beratung im Zusammenhang mit der Anwendung der Immunofluoreszenz-Methode.

2.0.0. MATERIAL UND METHODEN

2.1.0. MATERIAL

Die Polypenstöcke der Art Cladonema radiatum DUJARDIN 1843 (Hydrozoa, Anthomedusae), die für die Untersuchungen verwendet wurde, stammen aus dem Golf von Neapel und werden seit mehreren Jahren am Zoologischen Institut der Universität Zürich in künstlichem Meerwasser (H. Wiegandt, Krefeld) bei 18°C gezüchtet. Die Polypen, wie die von ihnen in unregelmässigen Zeitabständen blastogenetisch gezeugten Medusen, wurden in Abständen von 2 Tagen mit Nauplii von Artemia salina gefüttert. Die freischwimmenden Medusen (Abb. 8) wurden in Standardschalen (100ml) bei einem 12-stündigen Tag-Nachtrhythmus gehalten, wobei sich ein zweimaliger Wasserwechsel je Woche als vorteilhaft erwies.

2.2.0. METHODEN

2.2.1.

EXTIRPATION DER OCELLEN: Zur Auslösung des zur Neubildung der Medusen-Ocellen führenden Regenerationsprozesses wurden diese unter der binokularen Lupe (25x) einzeln, mit Hilfe einer durch einen Mikromanipulator geführten Glaskapillare (ϕ 60- 80 μ m) abgesaugt (vergl. 3.3.0.). Die hierfür notwendige Saugwirkung wurde mit einer Vario-Perpex-Pumpe (Stufe 6.90) erzeugt. In verschiedenen Zeitabständen nach erfolgter Extirpation wurden die regenerierenden Medusen für die licht- und elektronenoptischen Untersuchungen der Regenerate fixiert und eingebettet (vergl. 2.2.3. und 3.3.0.).

2.2.2.

IDENTIFIKATION DER ONTOGENETISCHEN ENTWICKLUNGSSTADIEN DER MEDUSE: Die Meduse von Cladonema radiatum entwickelt sich am Polypen (Tardent, 1978). Dieser blastogenetische Knospungsprozess wurde in 4 Stadien gegliedert (siehe unten), zu deren Identifikation (Vergr. 10x) die folgenden, deutlich erkennbaren grobmorphologischen Merkmale herangezogen wurden:

Stadium A: Ca. 3 Tage alte kugelförmige Medusenknospe, die an ihrem distalen Pol eine deutliche Eindellung aufweist. Das invaginierte Entoderm des präsumptiven Manubriums und die Radiärkanäle sind intensiv rot pigmentiert. Die Augenanlagen (Ocellen) treten äusserlich noch nicht in Erscheinung.

Stadium B: Ca. 5 Tage alte Medusenknospe, die mittlerweile eine längliche Form angenommen hat. Die marginalen Anlagen der Tentakelbulben sind als feine Ausbuchtungen des stark pigmentierten Entoderms sichtbar, während die im Bulbusbereich entstehenden Augenanlagen als dunkle Flecken in dem sonst durchsichtigen Ektoderm erstmals sichtbar sind.

Stadium C: Ca. 6 Tage alte Medusenknospe, in deren Ocellen bereits einzelne dunkle Pigmentzellen aufgetreten sind (vergl. Abb. 2).

Stadium D: (Abb. 14) Ca. 8 Tage alte Knospe, deren Manubrium die Form einer intensiv pigmentierten, jedoch noch nicht ausdifferenzierten Kuppel angenommen hat. Die Radiärkanäle, der Ringkanal und die Ocellen sind nun deutlich sichtbar, und z.T. sind die ersten Nesselköpfe der entstehenden marginalen Fangtentakel bereits ausgebildet.

2.2.3.

LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPIE: Für die licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen der sich entwickelnden, bzw. der ausdifferenzierten Ocellen wurden die mit dem Blastostyl (medusenzeugender Polyp) verbundenen Medusenknospen der ontogenetischen Stadien A bis D (siehe oben) bzw. freischwimmende, ausgewachsene Tiere (10d und älter) als ganzes fixiert. Die Regenerationsstadien wurden unmittelbar nach Entfernung der Augen (siehe 2.2.1.), sowie in Zeitabständen von 30min, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 6h, 7h, 8h, 9h, 10h, 12h, 14h, 16h, 18h, 20h, 1d, 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d, 8d, 9d, 10d, 11d, 12d, 13d, 14d, 15d, 20d und 30d nach Extirpation der Ocellen fixiert. Die Fixation erfolgte bei Zimmertemperatur in 2% Phosphat gepuffertem Glutaraldehyd (1- 2h) und anschliessend, nach mehrmaligem Auswaschen mit Phosphatpuffer, in einer 1% Osmium- Tetroxid- Meerwasser-Lösung (Cloney und Florey, 1968). Die Entwässerung wurde über eine aufsteigende Alkohol- oder Aceton- Reihe herbeigeführt. Die Objekte wurden anschliessend in Araldit oder im Epoxy- Harz ERL- 4206 (Spurr, 1969) eingebettet. Infolge der niedrigen Viskosität von "Spurr" wur-

den die Gewebe von diesem Einschlussmittel rascher durchdrungen, was sich besonders im Fall junger Medusenknospen, wo die Zellen dicht gepackt stehen, als vorteilhaft erwies. Die mit einem Reichert Ultramikrotom hergestellten Ultradünnschnitte wurden mit Uranylacetat, Bleicitrat (Reynolds, 1963) oder nach Sato (1967) kontrastiert und mit einem Siemens Elmiskop 102 analysiert.

2.2.4.

HISTOCHEMIE: Für den Nachweis des in den Chromatophoren des Augenbeckers vermuteten Melanins wurden Praemelanosomen bzw. Melanosomen durch Silberimprägnation im Ultradünnschnitt kenntlich gemacht (Mishima, 1964). Zu diesem Zweck wurden ganze, ausdifferenzierte Medusen (6 ca. 3 mm) oder Augen enthaltende Fragmente derselben in 4% Formaldehyd-Phosphatpuffer aus Paraformaldehyd bei pH 7,4 fixiert. Die 1h dauernde Inkubation in ammoniakalischer Silbernitratlösung (10% AgNO_3 und 10% Ammoniumhydroxid) erfolgte bei 58°C. Nach mehrmaligem Spülen in Aqua dest. wurden die Gewebe dann während 2 min der Wirkung einer Goldchloridlösung (6% Natriumthiosulfatlösung, 6% Ammoniumthiocyanat und 2% Goldchlorid) ausgesetzt und hernach während 1h bei 4°C in einer 1% gepufferten OsO_4 -Lösung (pH 7,4) nachfixiert. Als Kontrollen wurden entsprechende Gewebestücke in Glutaraldehyd und bei 70°C fixiert, jedoch ohne nachfolgende Inkubation in ammoniakalischer Silberlösung.

Das Melanin als eine komplexe polymere Substanz aus Tyrosin oder tyrosinhaltigen Verbindungen wird in den Prämelanosomen synthetisiert. Durch das Enzym DOPA-Oxydase (Tyrosinase) wird die Oxydation vermutlich von Tyrosin, sicher aber von 3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA) katalysiert (Bloch, 1917; Okun et al., 1970, 1971, 1971), an die sich der Ringschluss zu DOPA-Chrom in Gegenwart von Sauerstoff spontan anschliesst und nachdem das DOPA-Chrom über mehrere Zwischenstufen zu Melanin polymerisiert wird. Im tierischen Gewebe wird die Tyrosinase nur in den Praemelanosomen, nicht aber in den Melanosomen gefunden (Perotti and Mishima et al., 1962; Mishima, 1964; Feustel and Geyer, 1966; Mishima and Widlan, 1967). Da die enzymatisch katalysierte Oxydation von Tyrosin langsam abläuft, diejenige von 3,4-Dihydroxyphenylalanin dagegen schnell, wird für die Pigmentbildung unter histochemischen Bedingungen DOPA als Substrat vorgegeben (Perotti, 1965; Bairati, 1968).

Im Hinblick auf die Identifikation von Vorstufen der Melanin-Synthese wurden Ocellen-enthaltende Fragmente nach 1 stündiger Fixation in 4% Formaldehyd-Phosphatpuffer (pH 7,3 - 7,5; bei 4°C) während 16h in 0,1% D,L-3,4-Dihydroxyphenylalanin-Lösung (DOPA) in Phosphatpuffer (pH 7,4; bei 37°C) inkubiert. Die Nachfixierung erfolgte während 1h bei 4°C in 1% gepufferter, isotonischer OsO_4 -Lösung bei pH 7,4 (Mishima, 1967). Kontrollversuche wurden durch Inkubation ohne DOPA und mit Zusatz von 10mM KCN durchgeführt.

2.2.5.

IDENTIFIKATION DER LINSENPROTEINE

SDS - MIKROGELELEKTROPHORESE: Für die elektrophoretische Auftrennung

der im Linsenkörper enthaltenen Komponenten wurden je Probe 60 Ocellen, also ganze Augenbecher wie Linsenkörper (ϕ ca. 50 μ m) von fertig entwickelten Medusen mit einer 5 μ l Mikropipette unter der Lupe abgesogen (siehe 2.2.0.) und in ca. 0,5 μ l 3% SDS-Proben- Puffer mit 1% - Mercaptoethanol in einer an einem Ende zugeschmolzenen 100 μ l Micropet aufgenommen und darin unverzüglich mit einem feinen Glasstab homogenisiert.

Die für Vergleichszwecke herangezogenen Linsen von Rinder- und Amphibien- Augen (Pleurodeles waltl.) wurden wenige Minuten nach dem Tod der Tiere aus diesen herausoperiert. Nach kurzem Waschen in Aqua bidest. und nach der Entfernung der Linsenkapseln wurden die Linsen in 3% SDS- Proben- Puffer in einem Glas-homogenisator homogenisiert.

Alle Homogenate wurden anschliessend bei 15'000g während 60 min (4°C) zentrifugiert. Der dekantierte Ueberstand der Linsen- Homogenate von Rinder- und Amphibien- Augen wurde mit Proben- Puffer reihenweise verdünnt bis empirisch eine optisch optimale Auftrennung der Komponenten im Mikrogel (Weiersmüller, unveröffentlicht) gefunden wurde. Bei diesen Proben handelt es sich um ein Gemisch der wichtigsten Gruppen von Linsen- Proteinen, den α - β - und γ - Kristallinen (Witmer, 1959; Manski et al., 1960; Björk, 1961, 1964; Nöthiger, Devitt and Yamada, 1971; McDevitt and Croft, 1977; Bloemendal and Jong, 1979) die bei der Zonenelektrophorese im SDS- Polyacrylamidgel zum Teil in ihre Untereinheiten aufgetrennt werden (Bloemendal et al., 1962; Konyukov and Wachtel, 1963; Bloemendal, Bont and Benetti, 1965; Wisse et al., 1966; Bloemendal and Jong, 1979).

Die 7% und 10% SDS- Mikroplattengele (76 x 26 x 0,5 mm) bestanden aus einem 20 mm Trenngel und einem 0,6 mm Obergel. Die Zusammensetzung der Gellösungen wurde nach Angaben von Shapiro et al. (1967) und Weber and Osborn (1969) gewählt. Die Stromstärke betrug während der ganzen Elektrophoresedauer 3 mA. Das Molekulargewicht wurde mittels SDS- Polyacrylamidelektrophorese nach Weber and Osborn (1965, 1975) geschätzt. Alle Mikrogelplatten wurden mit Coomassie Brilliant Blue R-250 (Serva) (0,2% in 5:1:5 Methanol- Eisessig- H₂O Lösung) während 1h gefärbt. Entfärbt wurde über Nacht in einem Methanol- Eisessig- H₂O Gemisch (5:1:5).

IMMUNOFLUORESZENZ: Parallel zur elektrophoretischen Analyse der Linsenproteine von Cladonema wurde mit Hilfe der Immunofluoreszenzmethode geprüft, ob diese Kristalline mit jenen der Rinder- bzw. Urodelen- Linsen identisch sind.

Herstellung des Antigens: Die Augen von Kälbern wurden 30 min nach deren Tod herausgenommen und auf Eis aufbewahrt. Bei 4°C wurden aus diesem Material insgesamt 24 Linsen isoliert, die sogleich von ihren Kapseln befreit wurden. Die aus je 6 Linsen hergestellten Homogenate (siehe oben) wurden während 1h bei 15'000 g (4°C) in 5 ml 0,9% NaCl zentrifugiert. Durch Dekantieren wurden die wasserlöslichen Linsenproteine von den unlöslichen, sedimentierten Al-

buminen getrennt (Björk, 1961; Croft, 1972). Der so gewonnene Ueberstand wird von nun an als "Total- Linsenprotein" (tLP) bezeichnet. Der Proteingehalt wurde bei allen 4 Proben mit dem Biuret- Reagens (Cornall et al., 1949) bestimmt. Eine photospektrometrische Eichkurve (Beckmann Mod. DU) wurde mit Verdünnungsreihen von Rinderalbumin hergestellt.

Herstellung der Antikörper: Zwei weibliche Kaninchen (2,5- 3 kg) wurden für die Antikörperproduktion verwendet. Jedem Tier wurde im Abstand von 2 Wochen lateral subcutan ca. 10mg tLP mit Freund's Bacto Adjuvant complete (Difco 0638 - 60)v/v = 1:1 injiziert und nach 3 Wochen median noch dreimal 15mg reines tLP in Abständen von 2 Tagen verabreicht. Eine Woche nach der letzten Injektion wurde an der Ohrvene erstmals Blut (je 25ml) entnommen. Die γ - Globulin-Fraktion wurde nach dreimaliger Zentrifugation (je 10min, 5'000U/min; 4°C) des Blutes durch eine dreifache Präzipitation des Immunsersums gegen 40% gesättigtes Ammoniumsulfat gewonnen. Die gereinigten Globuline wurden in 0,15M NaCl (pH 7,0 mit 0,01M PBS gepuffert) gelöst (Takata et al., 1964, 1966; McDevitt et al., 1969).

Immunodiffusion: Die anti tLP- Antikörper wurden mit der Immunodiffusions- Methode nach Ouchterlony (1953) im Vergleich mit anderen Kaninchen- Seren auf ihre Spezifität hin in 1% Agar, gelöst in 0,01M PBS bei pH 7,0, geprüft. Die Präzipitations- Linien füllten bei Zimmertemperatur aus.

Immunofluoreszenz- Reagens: Für die Immunofluoreszenz- Untersuchungen auf dem Schnittpräparat wurde die tLP- γ - Globulin- Fraktion mit käuflichem Fluorescein Isothiocyanat (FITC) Anti- Rabbit IgG (Miles Lab. Inc. USA) nach der "indirekten" oder "Sandwich"- Methode (Weller and Coons, 1954) verwendet. Sowohl die anti tLP- Antikörper, wie die FITC Anti- Rabbit IgG wurde 3 mal mit selber präpariertem lyophilisiertem Rattenleber- Pulver adsorbiert.

Histologie und Fluoreszenz- Mikroskopie: Ganze Medusen von Cladonema radiatum wurden in 95% Ethanol bei 4°C oder in Carnoy (Romeis, 1968) fixiert, in Paraffin eingebettet und mit dem spezifischen Immunofluoreszenz- Reagens angefärbt nach der Methode von Sainte- Marie (1962). Schnitte von 3 μ m Dicke wurden geschnitten, gefärbt und mit flüssigem Polyvinylalkohol oder Glycerol zugedeckt (Rodriguez and Deinhardt, 1960). Für die Untersuchungen der Immunofluoreszenz auf den Schnittpräparaten wurde ein Zeiss Photomikroskop II verwendet, das mit einer Quecksilber- Höchstdrucklampe HBO 50W und dem Fluoreszenz- Auflichtkondensor III RS mit den Erregerfiltern (Schott) BG 12, BG 3 und den Sperrfiltern LP 515 (44) und LP 475 (47) ausgerüstet war.

3.0.0. RESULTATE

3.1.0. DIE STRUKTURELLE ORGANISATION DES OCELLUS

Am Rande der Schwimmglocke (Umbrella) der ausdifferenzierten, freibeweglichen Meduse (Abb.8) entspringen 8- 10 Fangtentakel, deren Basis zu einem sog. Bulbus ausgeweitet ist. Im Ektoderm eines jeden dieser Bulben ist je ein nach aussen orientierter Ocellus (Linsen-auge) eingelagert (Abb.8 u. 9). Dieser erscheint, in der Einfallsrichtung des Lichtes betrachtet, als braunschwarzer Pigmentring mit einem hellen Zentrum. Es ist dies die Stelle, wo der gläserne Linsenkörper (ϕ ca. $15\mu\text{m}$) des Auges liegt, der in der Seitenansicht (Abb.9) deutlich über den Rand des Pigmentbechers herausragt. Diese Teile werden von lichtdurchlässigen Ausläufern angrenzender Epithelzellen überdacht (Abb.9, 10 u. 13), welche die Funktion einer schützenden Cornea ausüben.

Der rein ektodermale Ocellus, der einen Durchmesser von $45\mu\text{m}$ und eine Tiefe von $55\mu\text{m}$ aufweist, ist vom Entoderm durch eine azelluläre Mesogloea (Abb.9 u. 13) getrennt.

Der Augenbecher setzt sich aus 2 Zelltypen, den melanin- haltigen Pigmentzellen (Chromatophoren, siehe 3.4.1. u. 3.4.2.) und den Lichtsinneszellen (Abb.1) zusammen, die in einem ungefähren Verhältnis von 2:1 (Abb.5) vorliegen.

Der kernhaltige Teil der Photorezeptorzellen ist zwischen den Chromatophoren eingebettet, während ihr distaler Ausläufer gegen das Innere des Augenbechers hin über die Pigmentzellen hinausragt (Abb.1). Diese distalen Segmente weisen die typischen Strukturen primitiver Photorezeptoren (Eakin and Westfall, 1962) auf: Von einem Schaft, in dessen Innern ein kurzes Cilienstück (9+2, Länge ca. $5-10\mu\text{m}$) eingebettet ist, zweigen seitlich in lampenbürstenähnlicher Anordnung Mikrovilli (Länge ca. $0,5\mu\text{m}$) ab, die sich mit den homologen Strukturen benachbarter Lichtsinneszellen zu einer eigentlichen Rezeptorschicht verzahnen (Eakin and Westfall, 1962; Eakin, 1965; Bouillon et Nielsen, 1974). Die Wurzel des Ciliums (ciliary root) zieht von dessen Basis bis tief in die proximale Portion der Zelle hinunter, deren Kern von zahlreichen tubulären Mitochondrien umgeben ist. Die Sinneszellen sind mit den benachbarten Pigmentzellen durch Desmosomen verbunden.

Die Pigmentzellen (Abb.1) ihrerseits haben die Gestalt eines sich basalwärts verjüngenden Kegels, dessen distales stumpfes Ende bis zur Mikrovilliregion (siehe oben) der Sinneszellen vorstösst. An der Kegelspitze sind die Pigmentzellen mittels einer schmalen Verbreiterung des Zellkörpers in der Mesogloea verankert (Abb.1). Während die Kerne der Pigmentzellen in den basalen Hälften liegen und dort nur von wenig Plasma umgeben sind, enthalten die apikal der Kerne

gelegenen Plasmaportionen grosse Vakuolen (ϕ ca. 0,3- 0,8 μ m), die mit elektronendichtem Material angefüllt sind (siehe 3.4.1.).

Der bikonvexe Linsenkörper, welcher im Zentrum des Augenbeckers der Mikrovilli- Region aufliegt, setzt sich aus zwei bis mehreren Untereinheiten (Abb.1 u. 5) zusammen. Bei diesen handelt es sich um kernlose Fragmente der Pigmentzellen, wobei jede der sich zu einem bikonvexen Körper verdichtenden Portionen von einer Plasmamembran umschlossen ist und über eine dünne Plasmabrücke mit der Pigmentzelle des Augenbeckers in Verbindung bleibt (Abb.1, 22,23 u. 24).

In der der Mesogloea zugewandten Region, d.h. hinter der Retina, liegen die Basalzellen (Abb.1 u. 14), deren elektronenoptisch dichtes Cytoplasma ein reich verzweigtes Endoplasmatisches- Reticulum (ER), tubuläre Mitochondrien, vereinzelte Golgi- Körper und Vesikel mit optisch mehr oder weniger dichtem Inhalt beherbergt. Vermutlich handelt es sich bei diesen Zellen um frühe Differenzierungsstadien von Pigmentzellen (Bouillon et Nielsen,1974).

Die peripheren, an den Ocellus angrenzenden Epithelzellen bilden mit lamellär abgeplatteten, stark vakuolisierten Ausläufern eine Cornea (Abb.1 u. 14), welche den Ocellus gegen das Aussenmedium hin abschliesst (Bouillon et Nielsen,1974; Weber und Tardent,1978). Die Zellen der Cornea weisen in dem über der Linse liegenden Bereich Mikrovilli und distal ausgeprägte, fingerartige Plasmalamellen auf (Abb.1, 10 u. 11).

Im Randbereich des Ocellus entspringen den Epithelzellen einzelne Flagellen (Abb.1 u. 12), deren Basis einen sog. Kegel- Komplex (Mariscal and Bigger,1976) aufweist. Dieser besteht aus einem Kranz von Mikrovilli, der die Basis des Ciliums umschliesst.

3.2.0. ONTOGENESE DES OCELLUS

Die Meduse von Cladonema radiatum entsteht am freistehenden, sessilen Polypen durch einen blastogenetischen Knospungsprozess, wobei die histogenetischen Phasen dieses Prozesses dem für die Anthomedusae gültigen Schema entsprechen (Kühn,1914; Tardent,1978 u.a.). Der ganze Vorgang, ausgehend vom in Erscheinung treten der ersten äusserlich sichtbaren Medusenanlage bis zur Ablösung der ausdifferenzierten, schwimmbfähigen Meduse, dauert bei dreimaliger Fütterung je Woche des Polypen- Stockes ca. 10 Tage (Temp. 18- 20°C). Im Hinblick auf die chronologische Beschreibung der ontogenetischen Differenzierung des Ocellus wurde dessen Entwicklungsverlauf aufgrund grobmorphologischer Kriterien in die folgenden 4 Stadien unterteilt (vergl. 2.2.2., Abb.2):

Stad. A: Die beiden epithelialen Schichten (Ektoblastem und Entoblastem) sind im Bereich der im mittleren Rumpfbereich des Polypen entstehenden Medusenanlage durch eine dünne Mesogloea- Schicht (siehe Abb. 14) voneinander getrennt. Dort, wo die Anlagen der Tentakelbulben entstehen, kommt es zu einer Anhäufung von verhältnismässig

kleinen Zellen (ϕ 3- 6 μ m), die mehrschichtig übereinander liegen und sich zunächst nur undeutlich von den übrigen, sie umgebenden Ektodermzellen unterscheiden (Abb.2a). Der Unterschied manifestiert sich in zunehmendem Mass in einer frühen Vakuolisierung der die praesumptive Augenanlage umgebenden Ektodermzellen (Abb.2). Die an die Mesogloea angrenzenden Zellen dieser Ocellus- Anlage enthalten ein reich verzweigtes, endoplasmatisches Reticulum (ER), zahlreiche Mitochondrien, Golgi- Körper sowie Vesikel mit optisch mehr oder minder dichtem Inhalt. Die darüber liegenden Zellen weisen neben den tubulären Mitochondrien und den Diktyosomen nur vereinzelte Vakuolen, die optisch leer erscheinen, auf. Die im peripheren Bereiche der Anlage angeordneten Zellen ihrerseits bilden apikal mehrere grössere Vakuolen aus und überdachen mit ihren Plasmaausläufern, die ebenfalls stark vakuolisiert sind, die zentrale Zellmasse (Abb. 2a).

Stad. B: Die Zellen der Augenanlage verlagern und strecken sich nun so, dass ihre Längsachsen senkrecht zur Mesogloea zu stehen kommen, wobei die Kerne in den basalen Portionen der Zellen verbleiben. In diesem Verband von bis zu diesem Zeitpunkt gleichartig ausgehenden Zellen machen sich die ersten Anzeichen der eintretenden Differenzierung in Pigment-, Sinnes- und Cornea- Zellen (vergl. 3.1.0.) bemerkbar. Auf der der Mesogloea anliegenden Seite der Anlage finden sich vereinzelte Basalzellen, die am einsetzenden Differenzierungs- geschehen nicht teilnehmen. Im apikalen Bereich der praesumptiven Pigmentzellen, deren basale Cytoplasmaportionen nun ein reich verzweigtes ER, Diktyosomen und tubuläre Mitochondrien aufweisen, setzt die Pigmentsynthese ein (siehe 3.4.1.).

Zwischen diesen Chromatoblasten werden die zukünftigen Photorezeptorzellen ausgeschieden, deren Cytoplasma eine geringere Elektronendichte aufweist als jenes der angehenden Pigmentzellen. Die praesumptiven Sinneszellen sind durch das an Mitochondrien reiche Cytoplasma der basalen Kernregion einerseits und die zwischen Pigmentzellen in Richtung des Zentrums der Zellmasse vorstehenden, pigmentlosen Fortsätze anderseits gekennzeichnet (Abb. 2b).

Stad. C: Zu diesem Zeitpunkt treten bereits die ersten Ansätze zur Linsenbildung in Erscheinung. Der Linsenkörper entsteht, wie aus EM- Untersuchungen dieses Stadiums zu schliessen ist, aus kernlosen, sich vom apikalen Pol der Pigmentzellen abschnürenden Plasmaportionen. Die basale Region dieser Zellen, in der sich auch der Kern befindet, ist von einem dichten, rauhen ER durchzogen, und der Kern selber ist von zahlreichen Diktyosomen umgeben. Ueber dem Kern erscheinen kompakte, vorerst noch rundliche Granula, die sich hinsichtlich ihrer optischen Dichte, Form und Grösse (ϕ 0,08- 0,3 μ m) von den Melanosomen (siehe unten) unterscheiden. Die erstgenannten Syntheseprodukte werden im zentralen Teil des entstehenden Ocellus mit einer distalen, vorerst

fingerartig, ausgestülpten Portion der Pigmentzellen, bis auf eine verbleibende schmale Plasmabrücke abgeschnürt. Das Material, das diese Satelliten der Pigmentzellen beinhalten, verdichtet sich im Verlauf dieses Abschnürungsprozesses, und die rundlichen Granula verformen sich zu kristallinen Körpern, welche schliesslich die kompakten Untereinheiten des Linsenkörpers bilden (vergl. 3.3.0., 3.4.2. u. die Abb. 2c, 32 u. 33). Jede von diesen sich zu einem bikonvexen Körper verdichtenden Plasmaportionen bleibt von ihrer ursprünglichen Plasmamembran umschlossen.

Die Cornea wird von den lamellär abgeplatteten, sich über den Augenbecher schiebenden Ausläufer der peripheren Epithelzellen gebildet, wobei diesem Teil der Zellen eine "starke" Vakuolisierung anheimfällt. Die Vakuolen sind in diesem Stadium im Plasma als plattgedrückte Membranschleifen zu erkennen (Abb. 15, 16, 17), ähnlich einzelner Zisternen von Diktyosomen.

Stad D: In diesem Stadium sind bereits alle Elemente des sich differenzierenden Linsenauges deutlich voneinander unterscheidbar. Hinter der Retina, d.h. zwischen dieser und der Mesogloea, finden sich nun etwas seltener die Basalzellen mit ihrem elektronendichten Cytoplasma und den darin enthaltenen Membranstrukturen und Organellen (vergl. 3.1.0.). Die Pigmentzellen werden grösser (Abb. 2d) und halten basal den Kontakt mit der Mesogloea aufrecht. Auf der apikalen Seite ihres Kerns nimmt die Anzahl der eingelagerten Pigmente zu. Die Granula einzelner Pigmentzellen, die sich am Aufbau des Linsenkörpers beteiligen (vergl. 3.4.2.), verdichten sich im zentralen Bereich zu runden oder leicht ovalen Einschlüssen der Zelle, während sich die Granula der distalen Plasmaportionen zusehends zu kristallinen Gebilden verformen. Im Randbereich des Ocellus kommt es zu einer weiteren verstärkten Vakuolisierung der Epithelzellen, was offenbar mit einer ausgeprägten Aktivität der Golgi-Apparate verbunden ist (Abb. 19). Im Verlaufe dieser Umstrukturierung der Epithelzellen werden sehr oft zwei bis drei seitlich abgeplattete Vakuolen nebeneinander an die Zellmembran angelegt. Im fortgeschrittenen Stadium der Vakuolisierung der den Ocellus umgebenden Epithelzellen, ist deren Kern nur noch von einer kleinen Cytoplasmamenge umschlossen, durch die er ähnlich wie bei vakuolisierten Pflanzenzellen mit der Zellmembran verbunden bleibt (Abb. 18).

3.3.0. DIE REGENERATIVE ENTWICKLUNG DES LINSENAUGES

Allgemeines: Die Hydromedusen sind den Polypen, aus denen sie hervorgegangen sind, was die morphogenetische Leistungsfähigkeit anbelangt fast ebenbürtig, obwohl sie, bezüglich ihrer Anatomie wie auch ihrer zellulären Architektur, eine höhere Organisationsstufe als die Polypen darstellen (Tardent, 1978). Die Hydromedusen verfügen, soweit

bisher festgestellt werden konnte, über ein gutes Regenerationsvermögen (Hargitt, 1902- 1903; Neppi, 1917; Schmid und Tardent, 1971).

Für die Auslösung des Regenerationsvorganges mussten die Ocellen der ansonst intakten Medusen einzeln mit Hilfe einer Glaskapillare abgesaugt werden (vergl. 2.2.1.), denn es hatte sich in Vorversuchen erwiesen, dass eine Excision der Ocellen wohl zu einem Wundverschluss, nicht aber zu einer Heilung des Organs führt (siehe Diskussion). Nach erfolgtem Absaugen der Augen wurden die Medusen in bestimmten Zeitabständen für die licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Regenerationsstadien fixiert (vergl. 2.2.3.).

Regenerationsverlauf: Das durch die Entfernung (siehe. 2.2.3.) des Linsenauges im Bulbus entstandene Loch ist bereits 5 min nach Extirpation wieder verschlossen, wobei der Wundverschluss durch ein Zusammenrücken der die Wundränder bildenden ektodermalen Epithelzellen zustande kommt. Im Wundbereich liegen zu diesem Zeitpunkt noch zahlreiche Zelltrümmer.

Ca. 6h später ist die Kontinuität der durch die Operation ebenfalls beschädigten Mesogloea wieder hergestellt (Abb. 3a). Welches der beiden Epithelien diese reparative Synthese übernimmt, konnte nicht ermittelt werden. Ueber der neu ausgeschiedenen Mesogloea erscheinen nun im Wundektoderm Zellen, die sich durch ihr wesentlich dichteres Cytoplasma und die basale Lage ihres Nucleus von den angrenzenden Epithelzellen unterscheiden. Diese neu in Erscheinung getretenen Zellen enthalten nur wenig rauhes endoplasmatisches Reticulum (ER), das sich hauptsächlich um den Kern schart. Die wenigen tubulären Mitochondrien liegen gleichmässig im dichten granulären Cytoplasma verteilt. Vereinzelt finden sich in dem den Kern umgebenden Plasmabereich Golgi- Körper und Vesikel mit optisch mehr oder weniger dichtem Inhalt.

Ueber die Herkunft dieser Regenerationszellen ist nichts bekannt (siehe Diskussion). Aus ihnen gehen im Verlauf des anschliessenden Differenzierungsprozesses sowohl die Elemente des Augenbeckers (vergl. 3.1.0.) als auch der Linsenkörper hervor. Vereinzelt treten basal zwischen den Regenerationszellen kleinere kompakte Zellen auf, die mit einem reich verzweigten ER versehen sind und deren Morphologie und Ultrastruktur jenen der Basalzellen (vergl. 3.1.0.) ähnlich sind (Abb. 3a).

24h nach der Wundsetzung bilden die konzentrisch angeordneten Regenerationszellen eine kompakte Anlage (Abb. 3b), die von fingerartig verlängerten, vakuolisierten Fortsätzen der angrenzenden Epithelzellen überwuchert werden. Damit ist auch die Neubildung der epithelialen Cornea eingeleitet (vergl. 3.1.0.).

3- 6 Tage nach der Entfernung des Ocellus entsteht, ausgehend von der zentralen Masse der Regenerationszellen, deren Differenzierung in Richtung der Pigment- und Sinneszellen schon weit fortgeschritten ist, aus kernlosen Fragmenten der sich im distalen Teil durchschnürenden Pigmentzellen (Abb. 3c u. 24) der Linsenkörper

(vergl. 3.1.0. u. 3.2.0.). Im gleichen Zeitraum stossen von den praesumptiven Photorezeptoren Plasmafortsätze bis auf die Höhe der Pigmentzellen vor und bilden mit ihren distalen, akzessorischen Strukturen (vergl. 3.1.0.) im Raum zwischen dem Augenbecher und der Linse die Rezeptor-Schicht (Abb. 3c u. 25).

10- 15 Tage nach Extirpation des Ocellus ist die Differenzierung der am Aufbau des Ocellus beteiligten Zelltypen und ihre strukturelle Architektur soweit fortgeschritten, dass sich das regenerierte Linsenauge weder äusserlich noch ultrastrukturell von einem ontogenetisch entstandenen Ocellus unterscheidet (Abb. 3d).

Die Pigmentzellen (PZ): Schon 6- 12h nach Entfernung des Auges, treten in den praesumptiven Pigmentzellen des Regenerationsprimordiums, distal der Kerne, optisch leere Vakuolen (ϕ ca. 0,3- 1 μ m) auf, in denen sich im Verlauf der folgenden 12h elektronenoptisch dichtes Material anzuhäufen beginnt, welches das Erzeugnis der grossen, im Cytoplasma dieser Zellen auftretenden Diktyosomen (Abb. 29) ist. Es handelt sich dabei, wie an Hand histochemischer Analysen gezeigt werden konnte (vergl. 3.4.1.), um Melanin. Bis zum 7. postoperativen Tag ist der Gehalt an Melanosomen von Zelle zu Zelle noch sehr unterschiedlich.

Zwischen dem 2. und 4. postoperativen Tag treten in der distalen, dem Innern des Augenbeckers zugewandten Portion vereinzelter PZ (vergl. 3.1.0. Abb.5) kompakte, elektronendichte Granula auf, die sich hinsichtlich Dichte, Form und Grösse (ϕ 0,08- 0,3 μ m) von den soeben erwähnten Pigmenteinschlüssen (siehe oben; Melanosomen) unterscheiden. Die Plasmaportion, welche diesen zweiten Typ von Einschlüssen beinhaltet, schnürt sich zwischen dem 3. und 6. Tag vom basalen Teil des Pigmentzellkörpers ab, so dass zwischen diesem und dem kernlosen Satelliten lediglich eine dünne cytoplasmatische Brücke bestehen bleibt (Abb. 3d u. 24). Aus diesen sich verdichtenden Zellfragmenten entsteht der Linsenkörper (Abb. 22 u. 23; vergl. 3.2.0. u. 3.4.2.).

Die Sinneszellen (SZ): Diese leiten sich von den gleichen Regenerationszellen (siehe: Regenerationsverlauf) wie die Chromatophoren der Retina ab. Schon 24h nach der Extirpation des Ocellus können wenige praesumptive Sinneszellen aufgrund ihrer Ultrastruktur als solche identifiziert werden. Das Cytoplasma dieser langgestreckten Zellen, die den Gürtel von PZ durchsetzen, ist weniger dicht und erscheint elektronenoptisch heller als jenes der sie umgebenden praesumptiven PZ. Die wenigen in ihrem Cytoplasma auftretenden Vakuolen (ϕ ca. 1 μ m) liegen sowohl apikal wie auch basal des Zellkerns und beinhalten elektronenoptisch helles Material. Im weiteren Verlauf der SZ-Differenzierung (2- 4d) verschwinden diese Vakuolen wieder. Der Zellkern, der 18h nach Extirpation des Ocellus bereits von zahlreichen tubulären Mitochondrien umgeben ist, verlagert sich im Verlaufe des 2. bis 3. postoperativen Tages in die basale plasma-

reiche Region der Zelle (Abb. 3b u. 3c). Während der darauf folgenden 1 bis 3 Tage, bilden die SZ im distalen, halsförmig verjüngten Teil des Zellkörpers, je ein Cilium (Länge ca. $5\mu\text{m}$) aus, das schon 3- 4 Tage nach der Wundsetzung bis in den zentralen Bereich der Augenanlage, über den Pigmentbecher hinaus in Richtung Cornea, vorstossen kann (Abb. 3c). Gleichzeitig, d.h. zwischen dem 3. und 6. Tag, differenziert sich auch die Mikrovilli- Schicht, die den Raum zwischen der Pigmentschicht und dem in Entstehung begriffenen Linsenkörper auszufüllen beginnt (vergl. 3.1.0.; Abb. 25). Ueber diesen Zeitraum (3- 10d) hinweg, durchstossen sämtliche distalen, halsartigen Plasmafortsätze der SZ, in denen seit dem 3. Tag eine "ciliary root" bis weit zum Kern hinunter vorstösst, den Pigmentgürtel (Abb. 3d u. 25).

Die Corneazellen: Unmittelbar nach Extirpation des Ocellus stellt eine durchgehende Zellschicht von ektodermalen Epithelzellen den Wundverschluss her. Diese vakuolisierten Zellen, deren Cytoplasma lediglich der Membran anliegt und den Kern umhüllt, beinhalten neben Golgi- Körpern einige wenige lipidartige Einschlüsse, wie sie sonst in den entodermalen Zellen des Bulbus häufig anzutreffen sind. Ausserdem finden sich Zelltrümmer sowohl in den Intrazellulärräumen als auch etwas seltener in den Vakuolen der lebenden Zellen. Zwei Stunden nach Wundsetzung sind diese Zelltrümmer bereits verschwunden, und der Wundbereich (Abb. 3a) ist von einer kontinuierlichen Schicht von Epithelzellen überzogen. Nach 3- 10h beginnen sich diese Zellen in der Region der Ocellus- Anlage unterschiedlich zu differenzieren, während die angrenzenden Epithelzellen eine verstärkte Vakuolisierung erfahren. Fingerförmige Ausläufer dieser Zellen beginnen die darunter liegende Retinaanlage (siehe 3.1.0.; Abb. 3b) zu überwuchern. Im peripheren Bereich der letzteren bilden die angehenden Corneazellen in ihren grossen Vakuolen (Abb. 21) lamellenartige Plasmastrukturen aus, in denen wiederum Vakuolen entstehen, bis der Körper der Corneazellen nur noch von einem feinen Gespinnst (7- 10d) von Cytoplasma durchzogen ist. In der über dem Pigmentbecher liegenden Zellportion legen sich langgestreckte Vakuolen so aneinander, dass der cytoplasmatische Teil nahezu konzentrische Strukturen (Abb. 20) bildet.

3.4.0. HISTOCHEMIE UND IDENTIFIKATION DER LINSENPROTEINE

3.4.1. DIE PIGMENTSYNTHESE

Die basale, also der Mesogloea zugekehrte Portion der praesumptiven Pigmentzellen (Abb. 29 u. 31) des entstehenden Augenbeckers enthält ein dichtes Netz von rauhem ER. In der Umgebung des Kerns sind zahlreiche Diktyosomen lokalisiert (Abb. 29 u. 31). Von diesen lösen sich kleine (ϕ ca. $0,1\mu\text{m}$), mit elektronendichtem Material gefüllte Vesikel ab. In vereinzelt Fällen konnten auch grössere (ϕ ca. $0,6\mu\text{m}$)

gefüllte Vesikel beobachtet werden, die von einer Schar kleinerer Bläschen umgeben waren, deren Durchmesser jenem von den Diktyosomen abgegebenen Vesikeln (siehe oben) entsprach. Ob es sich dabei um homologe Einheiten handelt, welche im Begriffe sind ihren in den Diktyosomen synthetisierten Inhalt in die grösseren Vakuolen zu entleeren, oder ob es sich um tyrosinasehaltige Golgi-Derivate handelt, die mit Vesikeln des ER verschmelzen (vergl. Bagnara et al., 1979) konnte nicht ermittelt werden. Im basalen Cytoplasma der Zelle, jedoch apikal des Kerns, stiessen wir auf einen anderen Typ von Vakuolen (ϕ ca. 0,8-1 μ m; Abb. 30), der körnige bzw. lamelläre Strukturen enthielt.

Im Gegensatz zur ontogenetischen Differenzierung der PZ (siehe 3.2.0.) entstehen im Verlauf ihrer regenerativen Differenzierung zunächst zahlreiche, optisch leere Vakuolen, die sich nach und nach mit elektronendichtem Material (Abb. 3) anfüllen. Dieser Prozess beginnt im basalen Cytoplasmabereich der Zelle und setzt sich in distaler Richtung fort, wobei die granulären, z.T. kristalloiden Inhalte der Vakuolen (Abb. 24, 25 u. 30) eine zusehends homogenere Struktur annehmen.

Die Vermutung liegt nahe, dass es sich bei diesem Material um Melanin handelt. Da sowohl die Melanosomen als auch die Praemelanosomen ammoniakalische Silberlösung reduzieren (Mishima et al., 1962; Mishima, 1964; Mishima and Widlan, 1967) wurde diese Vermutung mit Hilfe ultrahistochemischer Methoden geprüft. Die EM-Untersuchungen, die an Median-Sagittalschnitten durch Ocellen nach Silberimprägnation (siehe 2.2.4.) durchgeführt wurden, fielen positiv aus, d.h. die Vakuolen der praesumptiven Pigmentzellen waren mit elektronendichten Silberkörnern (Abb. 34 u. 35) überdeckt. Damit konnte der Inhalt der oben beschriebenen Vakuolen eindeutig als aus Melanin bestehend identifiziert werden, was den ersten eindeutigen Nachweis dieses Pigmentes bei Cnidariern darstellt. Das Verfahren liess ausserdem den Schluss zu, dass die im apikalen Teil der Zelle befindlichen Vakuolen, die später Bestandteile der Augensinsen werden (siehe unten), kein Melanin enthalten.

In einem zweiten Schritt wurde der Syntheseverlauf des Melanin mit Hilfe der DOPA-Oxydase-Reaktion (siehe 2.2.4.) analysiert. Die Melanin-Synthese findet in den sog. Praemelanosomen (Bloch, 1917; Perotti and Mishima et al., 1962; Mishima, 1964; Feustel und Geyer, 1966; Mishima and Widlan, 1967; Okun et al., 1970, 1971, 1971) statt und geht von Tyrosin bzw. tyrosinhaltigen Verbindungen aus (Okun et al., 1970, 1971, 1971), wobei die im ultrahistochemischen Test nachweisbare (siehe 2.2.4.) DOPA-Oxydase (Tyrosinase) wenigstens 2 der Syntheseschritte (Perotti, 1965; Bairati, 1968; Okun et al., 1970, 1971, 1971) katalysiert. Diese DOPA-Oxydase konnte im vorliegenden Fall in den Derivaten der Golgi-Apparate und in den oben beschriebenen Vesikeln der PZ nachgewiesen werden (Abb. 36 u. 37). Letztere liegen wiederum vor allem im basalen Teil der

Pigmentzelle während der Tyrosinase- Test in den Vakuolen der distalen Zellregion durchwegs negativ ausfiel, sind es doch jene Vesikel; in denen die Linsenproteine eingelagert werden (siehe 3.4.2.).

3.4.2. DIE GENESE DES LINSENKOERPERS

Am Aufbau des bikonvexen Linsenkörpers (Abb. 1 u. 13) beteiligen sich mehrere d.h. bis 6 (vergl. Abb. 5) sich von den Pigmentzellen des Augenbechers abschnürende, kernlose Cytoplasmaportionen, die sich zu einem sphärischen Kernglomerat verdichten. Die darin enthaltenen, vakuolären Einschlüsse (Abb. 1), die sich deutlich von den Melanosomen (siehe oben) unterscheiden, stammen ursprünglich aus dem basalen und zentralen Bereich (Abb. 32 u. 33) der sich differenzierenden PZ, wo sie zunächst als homogene, elektronendichte, von Membranen umhüllte Körper in Erscheinung treten. Einzeln oder gruppenweise werden diese Strukturen in die distale Region der Zelle verlagert (Abb. 25 u. 33) und werden dabei kompakter und nehmen eine rundliche Form an. Dort angelangt stehen diese Körper nun so dicht, dass zwischen ihnen kaum mehr Cytoplasma nachgewiesen werden kann (Abb. 22 u. 23). In diesem Stadium schnürt sich dieser Zellteil zusehends vom kernhaltigen Teil ab (siehe 3.2.0. u. 3.3.0.). In einer späteren Phase der Linsenbildung werden die Vakuolen der einzelnen Plasmaportionen zusehends eckiger und können dadurch fast fugenlos zu einem kristalloiden Körper zusammenrücken (Abb. 22 u. 32). Die von verschiedenen PZ stammenden Portionen bleiben jedoch stets durch Membranen voneinander getrennt (Abb. 14).

Die Inhalte der in jeder Portion dicht gedrängten Vakuolen sind, wie bereits aufgrund der ultrastrukturellen Untersuchung (Abb. 14) geschlossen werden darf, anders als jene der im basalen Teil der Pigmentzelle eingelagerten Melanosomen (siehe oben). In Anbetracht der optischen Eigenschaft der Linse liegt die Vermutung nahe, dass es sich um Linsenproteine handelt, deren Identifikation im Folgenden mit Hilfe der Mikrogelelektrophorese und der Immunofluoreszenz- Methode angestrebt wurde.

Mikrogelelektrophorese der ausdifferenzierten Linse (vergl. 2.2.5.): Sechzig intakte Ocellen (Augenbecher und Linse) je Probe wurden durch Absaugen mit einer Mikropipette gewonnen, in ca. 0,5ul 3% SDS- Puffer aufgenommen und anschließend für die Elektrophorese auf ein 7 resp. 10% SDS- Mikropolyacrylamidplattengel (Weiersmüller, unveröffentlicht) aufgetragen. Insgesamt 15 solche Proben wurden elektrophoretisch in Einzelfraktionen aufgeteilt und mit entsprechend präparierten Extrakten von Amphibien- Linsen (Pleurodeles waltl.) und Rinder- Linsen verglichen (siehe 2.2.5.). In Abb. 7 sind die Resultate einander gegenübergestellt.

Das SDS- Mikropolyacrylamidgel, mit dem Augen- Extrakte von Cladonema aufgetrennt wurden, wies ausnahmslos drei (A,B und C) deutliche,

mit Coomassie- Brilliant Blue R-250 gut anfärbbare Banden auf (Abb. 6 u. 7). Andere Fraktionen, insbesondere im Bereich der niedrigen Laufgeschwindigkeiten traten bei den aufgearbeiteten Extraktmengen nicht in Erscheinung (Abb. 6).

Da sich die Polypeptidketten im Polyacrylamidgel im Beisein von Natrium- Dodecyl Sulfat entsprechend ihrem Molekulargewicht (MG) auftrennen (Shapiro et al., 1967; Weber and Osborn, 1969), konnte durch den Vergleich der Elektrophorese- Mobilität von Marker- Proteinen, deren MG bekannt ist, das MG der Polypeptidketten annähernd bestimmt werden. Als Referenz für die im Ocellus von Cladonema gefundene A- und C- Bande wurde Serum albumin (BSA) und Ovalbumin gewählt (vergl. 2.2.5.). Das Molekulargewicht der Bande A liegt in der Größenordnung von 70'000, dasjenige der Bande C bei 40'000. Aufgrund der Elektrophorese- Auftrennung im SDS- Gel konnte nicht festgestellt werden, ob es sich bei den 3 gefundenen Banden A, B und C um drei verschiedene Proteine handelt, oder ob nur zwei Proteine, bzw. ein einziges, vorliegt, das durch die Anwesenheit von SDS in 2 bzw. 3 Untereinheiten aufgetrennt wurde (Shapiro et al., 1967; Weber and Osborn, 1969).

Im direkten Vergleich mit den elektrophoretisch aufgetrennten Linsenproteinen von Pleurodeles (PL) und Rind (KL) lag stets, was die Laufgeschwindigkeit der 3 bei Cladonema (CL) gefundenen Fraktionen A, B und C anbelangt, eine gute Übereinstimmung mit den entsprechenden 3 Banden der geprüften Wirbeltierlinsen vor (Abb. 7). Dabei muss berücksichtigt werden, dass der Hauptanteil der löslichen Linsenproteine von PL und KL in der Frontnähe zur Anode wandert.

Diese Übereinstimmung zwischen dem Ocellus von Cladonema einerseits und den Linsen von Pleurodeles bzw. Rind andererseits bezüglich Zahl der auftrennbaren Hauptfraktionen und deren Verhalten im elektrischen Feld, legt die Vermutung nahe, dass die Augenlinse von Cladonema Proteine enthält, die jenen der Wirbeltier- Linsen- kristallinen sehr ähnlich sind. Deshalb wurde der Vergleich mit Hilfe der Immunofluoreszenz- Methode weiter vorangetrieben.

Immunofluoreszenz (vergl. 2.2.5.): Die vom Ocellus von Cladonema hergestellten Schnittpräparate (2- 3µm Dicke) wurden nach Entfernung des Paraffins mit spezifischen Antikörpern (Ouchterlony, 1953), welche gegen Rinder- Linsenproteine (tLP) hergestellt worden waren, überschichtet (siehe 2.2.5.) und dann mit käuflichem Fluorescein Isothiocyanat (FITC) Anti- Rabbit IgG nach der "Indirekten- Methode" inkubiert (Weller and Coons, 1954; Rodriguez and Deinhardt, 1960; Sainte- Marie, 1962). Dabei wurden in 12 unabhängig voneinander angesetzten Serien insgesamt 76 Ocellen im Fluoreszenzmikroskop (Vergr. 500x) auf ihre Antigen- Antikörper- Reaktion bzw. Fluoreszenz- Eigenschaften hin untersucht. Dabei wurden jene Schnitte berücksichtigt, die wenigstens einen Teil des Linsenkörpers aufwiesen.

In jeder der 12 Serien war eine positive Reaktion zu verzeichnen (Abb. 38 u. 39), d.h. die Linsen der Ocellen fluoreszierten im Auflicht ausnahmslos und eindeutig (Abb. 38a u. 39a).

In Kontrollversuchen wurden die Schnittpräparate von Ocellen nicht mit tLP- Antikörpern, sondern mit unspezifischen γ - Globulinen überschichtet. Diese wurden aus dem Serum von Kaninchen gewonnen, die keine tLP-Injektion erhalten hatten. Diese Kontrollen lieferten durchwegs negative Resultate, d.h. die Linsen der Ocellen zeigten keine oder eine nur sehr schwache Fluoreszenz (Abb. 40), die niemals intensiver als der umgebende "back- ground" war.

Aufgrund dieses Befundes darf geschlossen werden, dass die mit der elektrophoretischen Methode nachgewiesene Übereinstimmung zwischen den Linsenproteinen von Cladonema und jenen der geprüften Wirbeltiere nicht zufallsbedingt ist, sondern dass es sich tatsächlich um dieselben Kristalline handeln muss.

4.0.0. DISKUSSION

Die dargestellten Befunde über den zellulären Aufbau des ausdifferenzierten, funktionellen Linsenauges von Cladonema radiatum Duj. (Hydrozoa, Anthomedusae) decken sich weitgehend mit den von Bouillon und Nielsen (1974) am gleichen Objekt gewonnenen Erkenntnissen. Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen über die Ontogenese dieses Organs zeigen deutlich, dass sich nur eine Keimschicht, nämlich das Ektoblastem, an der Genese des Ocellus beteiligt. Das Ektoblastem ist bereits von den frühesten Stadien der Augenentwicklung (Stad. A) an vom Entoblastem durch eine dünne, azelluläre Mesogloea- Schicht getrennt. Alle am Aufbau der Ocellus- Retina beteiligten Zelltypen leiten sich aus einem kompakten Verband, morphologisch indifferenter Zellen ab, deren Herkunft im Rahmen der Medusen- Ontogenese (Kühn, 1914; Tardent, 1978) nicht mit Sicherheit ermittelt werden konnte. Die Überprüfung, ob es sich dabei um interstitielle Zellen (I- Zellen) des Medusen- zeugenden Polyps (Blastozoid) oder um Produkte eines sich während der Medusen- Genese vollziehenden Dedifferenzierungsprozesses handelt, muss weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Das gleiche gilt auch für die regenerative Neubildung des Ocellus, dessen Differenzierung gleichfalls von einem Paket konzentrisch angeordneter Primordialzellen ausgeht. Diese weisen ultrastrukturell, abgesehen von einer verstärkten Vakuolisierung (vergl. 3.2.0. und 3.3.0.), die gleichen Organellen und Membranstrukturen auf wie die indifferenten Zellen, die im Verlaufe der ontogenetischen Entwicklungsprozesse das Ausgangsmaterial für die Augendifferenzierung

bilden. Bezüglich ihrer Herkunft bieten sich die folgenden, noch zu überprüfenden Interpretationsmöglichkeiten an:

1. Die regenerativ entstehende primordiale Augenanlage rekrutiert sich aus I- Zellen, die bei der ausdifferenzierten Meduse vorwiegend entlang der Radiärkanäle lokalisiert sind und die von dort in den Wundbereich wandern würden. Für diese Möglichkeit spricht unsere Beobachtung, wonach die I- Zellen oberhalb von Tentakelbulben, deren Ocellus im Begriffe ist regeneriert zu werden, in besonders grosser Zahl in Erscheinung treten.

2. Das Ausgangsmaterial des Ocellus leitet sich von bereits differenzierten somatischen Zellen des Medusen- Ektoderms ab, die auf dem Weg eines Dedifferenzierungsprozesses in einen morphologisch und funktionell indifferenten Zustand zurückgeführt werden, so wie dies in anderen Zusammenhängen beobachtet werden konnte (Normandin, 1960; Haynes and Burnett, 1963; Steinberg, 1963; Schmid and Tardent, 1971; Young, 1974; Schmid, 1975, 1976, 1979 in press).

Der Vergleich zwischen der Histogenese des ontogenetischen Entwicklungsverlaufs einerseits und jener der regenerativen Neubildung andererseits zeugt, wenn man von den noch bestehenden Unsicherheiten bezüglich der Herkunft des zellulären Ausgangsmaterials absieht (siehe oben), für eine weitgehende Übereinstimmung beider Entwicklungsverläufe. In beiden Fällen entstehen aus dem becherförmigen Primordium sowohl die Retina als auch der Linsenkörper. Bei den sog. "Basalzellen", die in allen Fällen zwischen der Retina und der Mesogloea vorgefunden wurden und die sowohl im Verlaufe des ontogenetischen wie auch des regenerativen Entwicklungsgeschehens auftreten, handelt es sich, wie die ultrastrukturellen Untersuchungen zeigten, um ein und denselben Zelltyp. Dieser unterscheidet sich von den Primordialzellen der ontogenetisch und regenerativ entstehenden Augenanlage durch ein elektronendichteres Cytoplasma und einen reichen Gehalt an rauhem endoplasmatischem Reticulum. Ueber die Funktion dieser Basalzellen ist noch nichts bekannt. Es könnte sich um triviale Reserveelemente, um Neuroblasten oder um frühe Entwicklungsstadien von Pigmentzellen handeln (Bouillon et Nielsen, 1974).

Das primordiale Zellmaterial der praesumptiven Retina differenziert sich aufgrund eines noch unbekannten Determinationsmusters in einen einzigen Typ von ciliären Photorezeptorzellen (Eakin and Westfall, 1962; Eakin, 1965), über dessen nervöse Ableitung aus der Retina noch keine Beobachtungen vorliegen sowie in Chromatophoren; dies in einem Verhältnis von 1:2. Zwischen Sinnes- und Pigmentzellen bestehen hier somit enge genealogische Beziehungen. Eine ähnliche Situation liegt auch bei den Arthropoden vor, wo sich die Sinneszellen (Retinulazellen), die primären und sekundären Pigmentzellen sowie die Co-nuszellen eines Ommatidiums von ein und derselben ektodermalen Stammzelle herleiten (Eidmann und Köhlhorn, 1970).

Von einem Teil der Chromatophoren des Auges von Cladonema trennen sich kernlose, cytoplasmatische Portionen ab, welche sich im

Zentrum des Augenbechers zu einem den Linsenkörper darstellenden Konglomerat verdichten. Die an der Bildung des Linsenkörpers beteiligten Chromatophoren der Retina synthetisieren im Verlauf dieses Differenzierungs geschehens mehr oder weniger gleichzeitig zwei Produkte: im basalen Teil des Zellkörpers das Melanin (siehe 3.4.1.) und in der zur Linse werdenden Portion die Linsenproteine (3.4.2.). In dieser Hinsicht traten gewisse Unterschiede zwischen der ontogenetischen und regenerativen Differenzierung der Chromatophoren auf. Im Verlauf der Ocellus-Ontogenese wird das Melanin bereits in einem frühen Differenzierungsstadium (Stadium B) in Vakuolen eingelagert, während bei der regenerativen Entwicklung, die bereits frühzeitig (10- 24h) gebildeten, zunächst aber leer stehenden Vakuolen erst in einer späteren Phase (3- 10 Tage) mit Pigment angefüllt werden. Es darf angenommen werden, dass die Melaninsynthese in beiden Fällen dem gleichen zeitlichen Programm unterstellt ist und identisch verläuft, dass aber Unterschiede bezüglich des Zeitpunktes ihrer Einlagerung in Vakuolen vorliegen. Unsicherheit besteht nach wie vor darüber, ob die in den Vesikeln der Diktiosomen synthetisierten Inhalte in grössere homolog gebildete Vakuolen entleert werden und ein Konglomerat von Melanin bilden, oder ob es sich bei den kleinen Vesikeln (vergl. 3.4.1.) um Tyrosinase-haltige Golgi- Derivate handelt, die mit primordialen Vesikeln, welche aus dem ER entstanden sind auf dem Wege zur Bildung von Eumelanosomen verschmelzen (Bagnara et al., 1979).

Mit Hilfe ultrahistochemischer Methoden (vergl. 3.4.1.) konnte das Pigment der Chromatophoren des Augenbechers eindeutig als Melanin identifiziert werden, was den erstmaligen Nachweis dieses Pigments bei Coelenteraten bedeutet. Das Melanin als komplexes, polymeres Produkt, das aus Tyrosin oder tyrosinhaltigen Verbindungen entsteht (Okun et al., 1970, 1970, 1971), wurde bis jetzt als weitverbreitetes Pigment bei Vertebraten, Protochordaten und Arthropoden gefunden (Mishima et al., 1962; Perotti, 1965; Perotti and Bairati, 1968; Noll, 1973; Bagnara et al., 1979 und andere). Die Anwendung des ultrahistochemischen Tests (Mishima et al., 1962; Mishima, 1964; Mishima and Widlan, 1967) führte hier zur Feststellung, dass die Melaninsynthese in den sich differenzierenden Chromatophoren der Ocellen zunächst in dem apikal des Kerns gelegenen Cytoplasmabereich einsetzt. In dieser Region nämlich, konnten die spezifisch kontrastierten Vakuolen der Praemelanosomen nachgewiesen werden, wo DOPA, unter der Einwirkung von DOPA-Oxidase (Tyrosinase) zu Melanin umgewandelt wird (Mishima, 1964; Feustel und Geyer, 1966). Allerdings besteht bei DOPA die Gefahr der Autooxidation, wenn es in einem alkalischen Milieu eingesetzt wird (Mishima et al., 1962; Mishima and Widlan, 1967). Auf diesem Weg konnte auch am vorliegenden Objekt bestätigt werden, dass die Tyrosinase ausschliesslich in den Praemelanosomen enthalten ist (Mishima, 1964; Feustel und Geyer, 1966).

Von besonderem Interesse erscheint uns die Beobachtung, wonach die distalen, kernlosen Abschnitte einzelner Pigmentzellen (Abb. 1, 24 u. 32) das Material zum Aufbau des sich aus mehreren solcher

Einzelportionen verdichtenden Linsenkörpers liefern (Abb. 5). Dies bedeutet, dass die sich differenzierenden Pigmentzellen, sowohl im Verlaufe der Ontogenese, als auch im Fall der regenerativen Differenzierung, räumlich und zeitlich verschoben zwei Produkte synthetisieren, d.h. das lichtabsorbierende Melanin (siehe oben) und die lichtdurchlässigen Linsenproteine (vergl. 3.4.2.), die für die optischen Eigenschaften der Linse verantwortlich zeichnen. Dabei sind nicht alle Chromatophoren der Retina am Aufbau des Linsenkörpers beteiligt (Abb. 4 u. 5). Die Frage, wie eine derartige Zelle "weiss", dass sie ausser dem Melanin noch Linsen- Proteine zu produzieren hat, muss noch offen bleiben. Vermutlich liegen aufgrund eines Determinationsprozesses zwei Typen von Pigmentzellen vor, wobei der eine davon nur Melanin, der andere Melanin und Linsen- Proteine synthetisiert.

Mit Hilfe der Mikrogelelektrophorese konnten die Einschlüsse der linsenbildenden Zellportionen als Proteine identifiziert werden. Darüber hinaus ergab sich aus den immunochemischen Untersuchungen die überraschende Feststellung, dass die Linsenproteine der Ocellen der Hydromeduse Cladonema radiatum mit Antikörpern, die gegen Rinder- Linsen- Antigene erzeugt worden waren, eine positive Antigen- Antikörper-Reaktion eingehen (Abb. 38 u. 39). Dieser Befund muss dahin interpretiert werden, dass die am Aufbau der Linse von Cladonema beteiligten Proteine gleiche antigenische Eigenschaften wie die des Wirbeltier- auges haben müssen. Ob es sich dabei um genau die gleichen Kristalline handelt, kann auf dem derzeitigen Stand der Untersuchungen nicht entschieden werden. Für eine weitgehende Uebereinstimmung sprechen ausserdem die Ergebnisse der elektrophoretischen Auftrennungen, wo bei Cladonema gemäss den Extrakten von Amphibien- und Rinderlinsen drei Haupt- Fraktionen auftraten, deren Verhalten im elektrischen Feld jenen der Wirbeltier- Kristalline entsprach. Dieser Befund ist umso erstaunlicher, als entsprechende immunologische Gegenüberstellungen zwischen Linsenproteinen von wirbellosen Tieren (Cephalopoda) (Manski and Halbert, 1965) einerseits und solchen von Vertebraten andererseits negativ ausfielen und deshalb die Meinung aufkommen liessen, die Linsenproteine der Invertebraten seien grundsätzlich verschieden von jenen der Wirbeltiere (McDevitt, persönl. Mitteilung). Andererseits aber sprechen vergleichende biochemische Befunde an Rinder-Linsenkristallinen dafür, dass die Evolution dieser Proteine sehr konservativ sein muss (Bloemendal and Jong, 1979), sodass mit der hier bekräftigten Möglichkeit gerechnet werden muss, dass der Ursprung der Wirbeltier- Kristalline unter den Invertebraten- Augen zu suchen ist, wobei die Cephalopoden (Manski and Halbert, 1965), wie in so vielen anderen Belangen eine Ausnahme darstellen würden.

Die für Cladonema beschriebene, von Pigmentzellen ausgehende Linsen- Genese ist aus einem anderen Grund noch von besonderem Interesse: Sie zeigt in Uebereinstimmung mit der Wolff'schen Linsenregeneration bei Amphibien (vergl. Yamada, 1977), wo die Zellen der neuzubildenden Augenlinse durch Transdifferenzierung aus Pigmentzellen

des dorsalen Irisrandes hervorgehen, dass Melanophoren offenbar in der Lage sind neben ihrem primären Syntheseprodukt, dem Melanin, auch noch Linsenproteine zu bilden. Diese beiden Beispiele deuten somit auf eine enge stammesgeschichtliche und ontogenetische Beziehung zwischen Chromatophoren einerseits und linsenerzeugenden Zellen andererseits hin. Die Tatsache, dass die Pigmentzellen der Wirbeltiere als Derivate der Neuralleiste nicht nur in der mesodermalen Dermis (Hörstadius, 1950), sondern auch in der ektodermalen Epidermis lokalisiert sind (Ham, 1969), eröffnet die zu überprüfende Möglichkeit, dass auch die embryonale Linsen- Genese der Amphibien, die nach klassischen Vorstellungen von Epidermiszellen ausgeht (Mangold, 1931), ihren Ursprung in einer lokalen epidermalen Anhäufung von allotypisch transdeterminierten Chromatoblasten haben könnte.

Ausser Acht gelassen wurden in dieser Arbeit die strukturellen und physiologischen Aspekte der Beziehungen zwischen den neuronalen Komponenten der Retina des Cladonema- Auges einerseits und dem übrigen Teil des medusären Nervensystems (Bullock and Horridge, 1965). So können im jetzigen Zeitpunkt der Untersuchungen keine Angaben darüber gemacht werden, ob und in welcher Weise die Photorezeptoren mit dem Nervenring der Meduse verschaltet sind und wie diese Verschaltungen ontogenetisch und regenerativ entstehen.

5.0.0. ZUSAMMENFASSUNG

- I. Die strukturelle Organisation des rein ektodermalen Linsen Auges (Ocellus) (Durchm. 45- 55µm) von Cladonema radiatum Duj. (Cnidaria, Hydrozoa) wurde aufgrund licht- und elektronenoptischer Untersuchungen rekonstruiert. Der Ocellus setzt sich aus einem Augenbecher (Retina), einem darin eingebetteten Linsenkörper (Ø ca. 15µm) und einer sich darüber wölbenden Schicht von Ausläufern epithelialer Zellen zusammen, der die Funktion einer schützenden, aber lichtdurchlässigen Cornea zugesprochen werden kann. Der Augenbecher setzt sich aus 3 Zelltypen zusammen: den Basalzellen, den Melanin- haltigen Pigmentzellen und den Lichtsinneszellen, wobei die letzteren zwei Typen in einem ungefähren Verhältnis von 2 : 1 vorliegen.
- II. Die ontogenetische und regenerative Histogenese des Linsen Auges wurden licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Die Retina differenziert sich im Verlaufe der Ontogenese aus einem kompakten Verband morphologisch indifferenter Zellen, während sie im Fall der Regeneration aus Regenerationszellen unbekannter Herkunft entsteht. Die Linse wird in beiden Fällen aus Einschlüssen kernloser

Fragmente gebildet, die sich von einer kleinen Zahl von Pigmentzellen abschnüren. Die Cornea wird durch distale, lamellär abgeplattete Ausläufer der den Augenkörper kranzförmig umschliessenden Epithelzellen, gebildet.

- III. Mit Hilfe ultrahistochemischer Methoden (Silberimprägnation und DOPA- Oxydase- Reaktion) konnte das Pigment der Chromatophoren in der Retina als Melanin identifiziert werden.
- IV. Am Aufbau des Linsenkörpers beteiligen sich mehrere kernlose Cytoplasmaportionen von Melanophoren, die sich zu einem sphärischen Konglomerat vereinigen. Die darin enthaltenen kristallinen Einschlüsse wurden zusammen mit den Zellen des Augenbeckers elektrophoretisch (Mikropolyacrylamidgel) in Einzelfraktionen aufgetrennt und mit entsprechend behandelten Extrakten von Amphibien- Linsen (Pleurodeles waltl.) und Rinder- Linsen verglichen. Die Linsenproteine von Cladonema bestehen aus 3 Hauptfraktionen, die sich elektrophoretisch identisch verhalten wie Fraktionen von Wirbeltier-Kristallinen.
- V. In einem weiteren Schritt wurde die Identifikation der Linsenproteine auch mit Hilfe der Immunofluoreszenz angestrebt. Dabei konnten Antigen- Antikörper- Reaktionen zwischen Linsen- Antigenen des Ocellus von Cladonema radiatum und spezifischen γ - Globulinen von Rinder- Linsen- Proteinen nachgewiesen werden.
- VI. Die Resultate dieser Untersuchungen werden u.a. vom evolutionistischen Gesichtspunkt aus diskutiert.

6.0.0. LITERATURVERZEICHNIS

- Bagnara, J.T. et al. (1979): Common origin of pigment cells. *Science*. 203, 410- 415.
- Berger, E.L. (1900): Physiology and histology of the cubomedusae. Johns Hopkins Univ. Memoirs. Biol. Lab. 4.
- Björk, J. (1961): Studies on γ - crystallin from calf lens. I. Isolation by gel filtration. *Exp. Eye Res.* 1, 145- 154.
- Björk, J. (1964): Fractionation of β - crystallin from calf lens by gel filtration. *Exp. Eye Res.* 3, 248- 253.
- Björk, J. (1968): Comparative studies of α - crystallin from lenses of different mammalian species. *Exp. Eye Res.* 7, 129- 133.
- Bloch, B. (1917): Das Problem der Pigmentbildung. *Arch. Dermat. Symp.* 124, 129- 208.
- Bloemendal, H., W.S. Bont, J.F. Jongkind & J.H. Wisse (1962): Splitting and recombination of α - crystallin. *Exp. Eye Res.* 1, 300- 305.
- Bloemendal, H., W.S. Bont & E.L. Benedetti (1965): On the subunits of α - crystallin. *Exp. Eye Res.* 4, 319- 326.
- Bloemendal, H. & W.W. de Jong (1979): Looking at lens proteins. *TIBS*. 4 / 6, 137- 141.
- Bouillon, J. & M. Nielsen (1974): Etude de quelques organes sensoriels de cnidaires. *Archs. Biol. (Bruxelles)* 85, 307- 328.
- Bullock, T.H. & A. Horridge (1965): The nervous systems of invertebrates Vol. II. W.H. Freeman et Co., San Francisco- London, p.918.
- Cornall, A.G., C.J. Bardawill & M.M. David (1949): Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177, 751- 766.
- Crof, L.R. (1972): The amino acid sequence of γ - crystallin (fraction II) from calf lens. *Biochem. J.* 128, 961- 970.
- Eakin, R.M. (1963): Lines of evolution of photoreceptors. *J. Gen. Physiol.* 46, 357- 367.

- Eakin, R.M. (1965): Evolution of photoreceptors. Reprinted from Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. Vol. XXX.
- Eakin, R.M. (1972): Structure of invertebrate photoreceptors. In: The photochemistry of vision VII (J.A. Dartnall, ed.) Berlin- Heidelberg- New York: Springer.
- Eakin, R.M. & J.A. Westfall (1962): Fine structure of photoreceptors in Hydromedusae, Polyorchis penicilatus. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 48, 826- 833.
- Eakin, R.M. & J.A. Westfall (1963): Lines of evolution of photoreceptors. In: The general physiology of cell specialization. New York, McGraw- Hill. p. 393- 425.
- Eidmann, H. & F. K hlhorn (1970): Lehrbuch der Entomologie. Paul Parey Verl. 2. Aufl. p. 296- 297.
- Feustel, E.M. & G. Geyer (1966): Zur Eignung der Acroleinfixierung für histochemische Untersuchungen. II. Lipide, Enzyme. Acta histochem. 25, 219- 223.
- Frei, E. (1973): Untersuchungen über die allgemeine und die spektrale Photosensibilität von Hydra attenuata Pall. Ph. D. thesis, Univ. of Zurich, 94 pp.
- Ham, A.W. (1969): Histology. Sixth Ed. Pitman Medical Publishing CO., LTD., London.
- Hargitt, G.T. (1902-3): Notes on the regeneration of Gonionema. Biol. Bull. 1, 1- 12.
- Haynes, J.F. & A.L. Burnett (1963): Dedifferentiation and Redifferentiation of Cells in Hydra viridis. Science. 142, 1481- 1485.
- Hertwig, O. & R. Hertwig (1878): Das Nervensystem und die Sinnesorgane der Medusen. Leipzig. Vogel.
- H rstadius, S. (1950): The Neural Crest. Geoffrey Cumberlege, Oxford University Press, London.
- Konyukhov, B.V. & A.W. Wachtel (1963): Electrophoretic studies of proteins in normal lenses and cataracts of inbred and mutant mice. Exp. Eye Res. 2, 325- 330.
- Kühn, A. (1914): Entwicklungsgeschichte und Verwandtschaftsbeziehungen der Hydrozoen. 1. Teil: die Hydrozoen. Ergebn. Fortschr. Zool. 4, 1- 284.

- Linko, A. (1900): Bau der Augen bei den Hydromedusen. Acad. Imp. Sci. ST. Petersburg, Mem. Ser. 8, 1- 22.
- Mangold, O. (1931): Das Determinationsproblem III. In: Ergebnisse der Biologie. 7, 193- 403. Springer Verlag.
- Manski, W. & S.P. Halbert (1965): Immunochemistry of the lens with special reference to phylogeny. Am. J. Ophth. 4 / 4, 539- 559.
- Mariscal, R.N. (1973): Scanning electron microscopy of the sensory surface of the tentacles of sea anemones and corals. Z. Zellforsch. 147, 149- 156.
- Mariscal, R.N. (1974): Scanning electron microscopy of the sensory epithelia and nematocysts of corals and a corallimorpharian sea anemone. Proc. Sec. Int. Coral Reef Symp. 1. p.519- 532.
- Mariscal, R.N. & C.H. Bigger (1976): A comparison of putative sensory receptors associated with nematocysts in an Anthozoan and a Scyphozoan. Coelenterate ecology and behavior. (Ed. by G.O. Mackie) New York 10011. p. 559- 568.
- Mariscal, R.N., C.H. Bigger & R.B. McLean (1976): The form and function of cnidarian spirocysts. Cell. Tiss. Res. 168, 465- 474.
- McDevitt, D.S., I. Meza & T. Yamada (1969): Immunofluorescence localization of the crystallins in amphibian lens develop., with special reference to the γ - crystallins. Develop. Biol. 19, p. 581- 607.
- McDevitt, D.S. & L.R. Croft (1977): On the existence of δ - crystallin in the bird lens. Exp. Eye Res. 25, 473- 481.
- Mishima, Y. (1964): Electron microscopic cytochemistry of melanosomes and mitochondria. J. Histochem. Cytochem. 12, 784- 790.
- Mishima, Y., A.V. Loud & F.F. Schaub (1962): Electron microscopy of "premelanin". J. Investigative Dermat. 39, 55- 62.
- Mishima, Y & S. Widlan (1967): Enzymatically active and inactive melanocyte populations and ultraviolet irradiation: combined DOPA-premelanin reaction and electron microscopy. J. Invest. Dermat. 49, 273- 281.
- Neppi, V. (1917): Sulla rigenerazione nelle idromeduse. Pubbl. Staz. Zool. Napoli. 2, 191- 207.

- Noll, F. (1973): Molekulare Biologie der Zelle. Kp. 10/2. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 2. Aufl. p. 402.
- Normandin, D.K. (1960): Regeneration of Hydra from the Entoderm. Science 132, 678.
- Nöthiger, R., D.S. McDevitt & T. Yamada (1971)a: Detection of δ -crystallins in the developing amphibian lens by peroxidase- labelled antibodies. Experientia 27 / 4, 423- 424.
- Nöthiger, R., D.S. McDevitt & T. Yamada (1971)b: Comparison of δ -crystallins from frog and newt. Exp. Eye Res. 12, 94- 98.
- Okun, M.R. & W.F. Lever (1970): Histochemical differentiation of peroxidase- mediated melanin formation in mammalian tissues. Histochem. 23, 295- 309.
- Okun, M.R., L.M. Edelstein, G. Hamada, B. Donnellan & N. Or (1970): The role of peroxidase vs. the role of tyrosinase in enzymatic conversion of tyrosine to melanin in melanocytes, mast cells and eosinophils. J. Invest. Dermat. 55, 1- 12.
- Okun, M.R., B. Donnellan, W.F. Lever, L.M. Edelstein & N. Or (1971): Peroxidase- dependant oxidation of tyrosine or DOPA to melanin in neurons. Histochemie 25, 289- 296.
- Oucherlony, O. (1953): Antigen- antibody reactions in gels. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 32, 231- 240.
- Perotti, M.E. (1965): Cytochemical techniques in electron microscopic studies of melanin synthesis. In: Atti V Congr. It. Microscopy Elettron. Tipogr. Seminario, Padova. 37- 40.
- Perotti, M.E. & A. Bairati (1968): Ultrastructure of the melanotic masses in two tumorous strains of Drosophila melanogaster (tuB₃ & Freckled). J. Invert. Pathology. 10 / 1, 122- 138.
- Reynolds, E.S. (1963): The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol. 17, 208.
- Rodriguez, J. & F. Deinhardt (1960): Preparation of a semipermanent mounting medium for fluorescent antibody studies. Virology 12, 316- 317.
- Romeis, B. (1968): Mikroskopische Technik. Oldenbourg Verlag. München Wien. 16. Auflage.

- Sainte-Marie, G. (1962): A paraffin embedding technique for studies employing immunofluorescence. *J. Histochem. Cytochem.* 10, 250- 256.
- Sato, T. (1967): A modified method for lead staining of thin sections. *J. Electronmic.* 16, 133.
- Schewiakoff, W. (1889): Beiträge zur Kenntnis des Acalephenauges. *Morph. Jb.* 15, 21- 60.
- Schmid, V. (1975): Cell transformation in isolated striated muscle of Hydromedusae independent of DNA synthesis. *Expl. Cell Res.* 94, 401- 408.
- Schmid, V. (1976): The transformation potential of striated muscle in Hydromedusae. *Devel. Biol.* 49, 508- 517.
- Schmid, V. (1979): The in vitro regeneration of a functional medusa organ from two differentiated cell types. In press.
- Schmid, V. & P. Tardent (1971): The reconstititional performances of the Leptomedusa Campanularia johnstoni. *Marine Biol.* 8, 99- 104.
- Shapiro, A.L., E. Vinuela & J.V. Maizel (1967): *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 28, 815.
- Singla, C.L. (1974): Ocelli of Hydromedusae. *Cell Tiss. Res.* 149, 413- 429.
- Spurr, A.R. (1969): A low- viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* 26, 31.
- Takata, C., J.F. Albright & T. Yamada (1964): Lens antigens in a lens- regenerating system studied by the immunofluorescent technique. *Develop. Biol.* 9, 385- 397.
- Takata, C., J.F. Albright & T. Yamada (1966): Gamma crystallins in wolffian lens regeneration demonstrated by immunofluorescence. *Develop. Biol.* 14, 382- 400.
- Tardent, P. (1978): *Morphogenese der Tiere: Coelenterata, Cnidaria.* VEB Gustav Fischer Verlag Jena. pp. 71- 415.
- Tardent, P. & E. Frei (1969): Reaction patterns of dark- and light- adapted Hydra to light stimuli. *Experientia* 25, 265- 267.
- Tardent, P., E. Frei & M. Borner (1976): The reactions of Hydra attenuata Pall. to various photic stimuli. In: *Coelenterate ecology and behavior*. Ed. by G.O. Mackie. New York, N.Y. 10011.

- Tardent, P. & C. Weber (1976): A quantitative and qualitative inventory of nervous cells in Hydra attenuata Pall. In: Coelenterate ecology and behaviour. Ed. by G.O. Mackie. New York, N.Y. 110011. p. 501- 512.
- Weber, K. & M. Osborn (1969): The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate- polyacrylamide gelelectrophoresis. J. Biol. Chem. 244, 4406- 4412.
- Weber, K. & M. Osborn (1975): Proteins and sodium dodecyl sulfate: Molecular weight determination on polyacrylamide gels and related procedures. In: The Proteins. Vol.I. H. Pleurath and R.L. Hill. pp. 179- 223.
- Weber, C. & P. Tardent (1978): Zur Entwicklung des Linsenauges von Cladonema radiatum Duj. (Hydrozoa, Anthomedusae). Rev. suisse Zool. 85 / 4, 762- 767.
- Weller, T.H. & A.H. Coons (1954): Fluorescent antibody studies with agents of varicella and herpes zoster propagated in vitro. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 86, 789- 794.
- Wisse, H., A. Zweers, J.F. Jongkind, W.S. Bont & H. Bloemendal (1966): Further studies on the sub- units of α - crystallin. Biochem. J. 99, 179- 188.
- Yamada, T. (1977): Control mechanisms in cell- type conversion in newt lens regeneration. 13 Monographs in Develop. Biol. Series Editor A. Walsky, New York, N.Y.
- Yamasu, T. & M. Yoshida (1973): Electron microscopy on the photoreceptors of an anthomedusa and a scyphomedusa. Publs. Seto mar. biol. Lab. 20, 757- 778.
- Yamasu, T. & M. Yoshida (1976): Fine structure of complex ocelli of a cubomedusan Tamoya bursaria H. Cell Tiss. Res. 170/3, 325- 340.
- Yoshida, M (1973): Photoreception in medusae. Mar. Sci. 5, 12- 17.
- Young, J.A.C. (1974): The nature of tissue regeneration after wounding in the sea anemone Calliactis parasitica. J. mar. biol. Ass. U.K. 54, 599- 617.

7.0.0. ABBILDUNGEN 1 - 40

Abbildung 1

Rekonstruktion der zellulären und subzellulären Architektur des ausdifferenzierten Linsenauges von Cladonema radiatum Duj.

BZ= Basalzelle; CO= Cornea; EZ= Epithelzelle; FL= Flagellum (vergl. Abb. 12);
ME= Mesogloea; MVS= Mikrovilli- Schicht der Photorezeptoren; PZ= Pigmentzelle;
SZ= Sinnes-, bzw. Photorezeptorzelle.

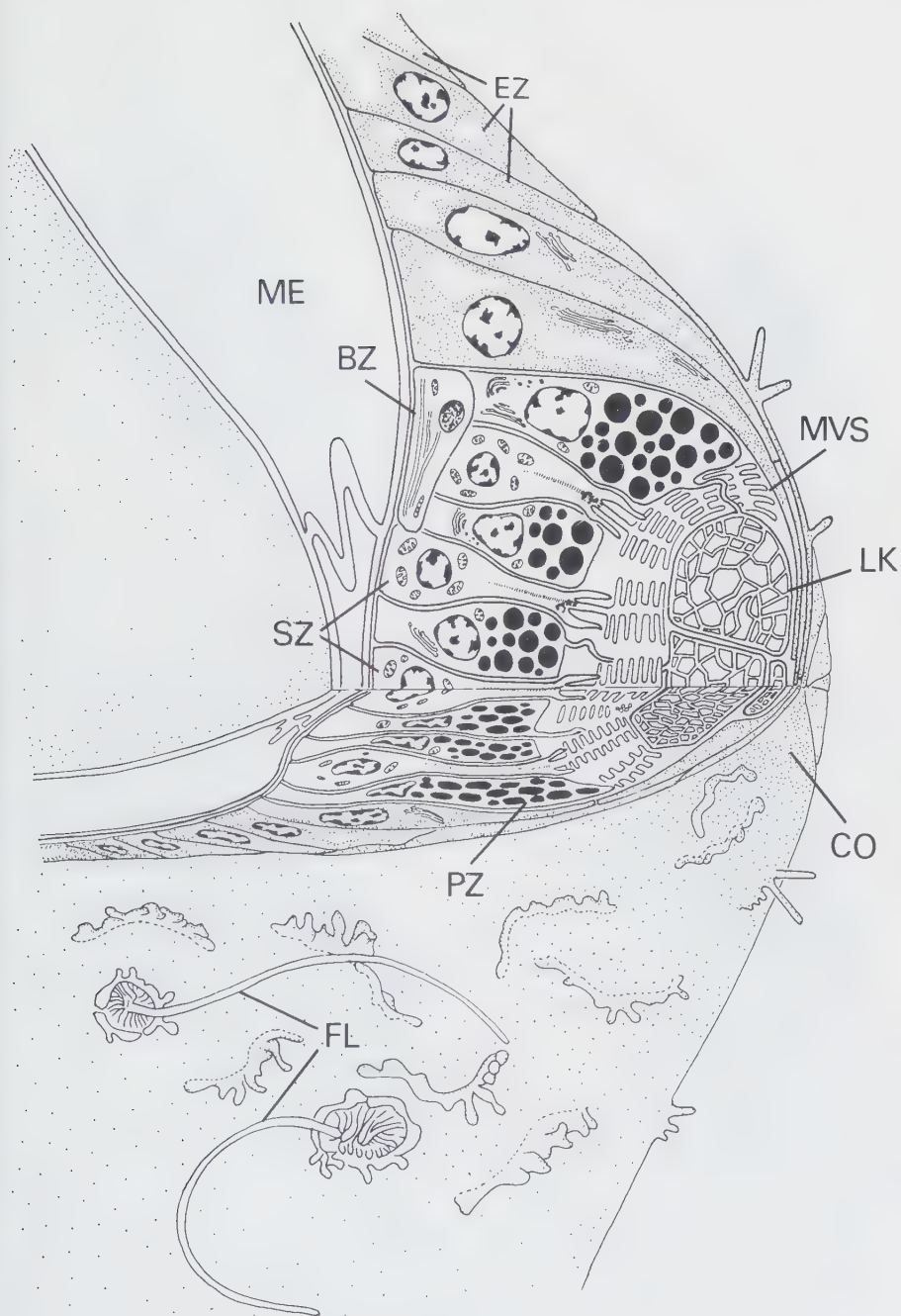
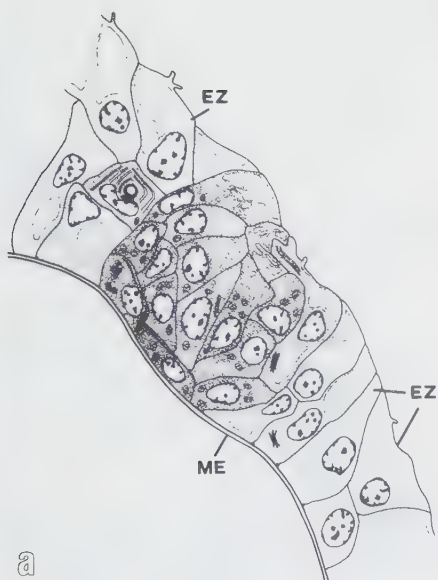


ABBILDUNG 1

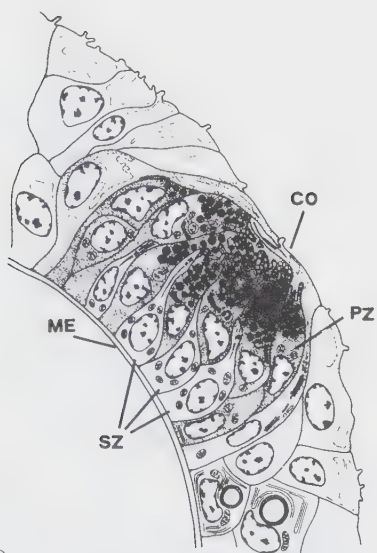
Abbildung 2

Halbschematische Darstellung der ontogenetischen Entwicklung des Linsen-
auges von Cladonema radiatum Duj. Die Mediansagittal- Schnitte durch den
Ocellus der Bilder a bis d wurden anhand EM- Ultradünnschnitten rekonstru-
iert. Sie entsprechen den ontogenetischen Differenzierungsstadien A (a),
B (b), C (c) und D (d).

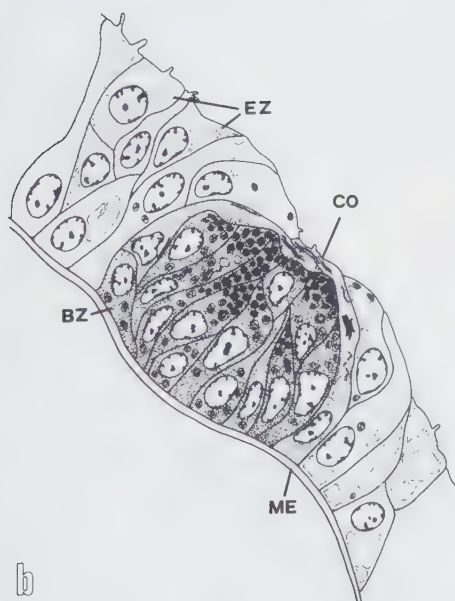
BZ= Basalzelle ; CO= Cornea; EZ= Epithelzelle ; LK= Linsenkörper; ME= Me-
sogloea; PZ= Pigmentzelle ; SZ= Sinnes-, bzw. Photorezeptorzelle.



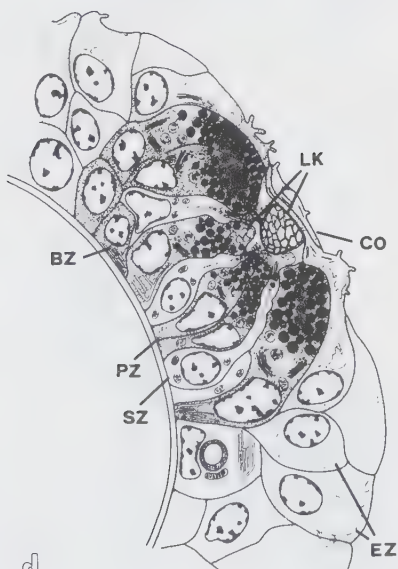
a



c



b

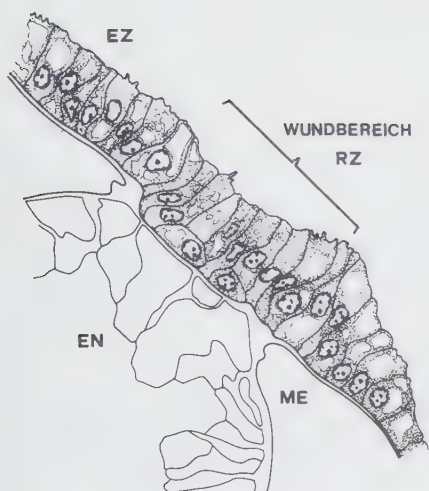


d

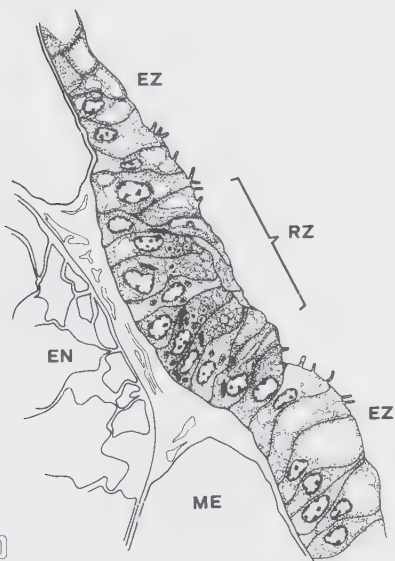
Abbildung 3

Halbschematische Darstellung der regenerativen Differenzierung des Linsen-
 auges von Cladonema radiatum Duj. Die Mediansagittal- Schnitte durch den
 Ocellus der Abbildungen a bis d wurden anhand EM- Ultradünnschnitten re-
 konstruiert und entsprechen den 4 im Text beschriebenen Stadien: a= 6h;
 b= 24h; c= 3- 4 Tage; d= 10- 15 Tage nach Entfernung des Ocellus.

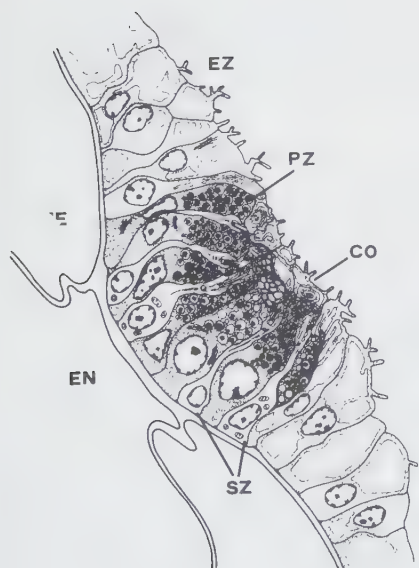
BZ= Basalzelle; CO= Cornea; EZ= Epithelzelle; LK= Linsenkörper; ME= Meso-
 gloea; MVS= Mikrovilli- Schicht der Photorezeptoren; PZ= Pigmentzelle;
 RZ= Regenerationszelle; SZ= Sinnes-, bzw. Photorezeptorzelle



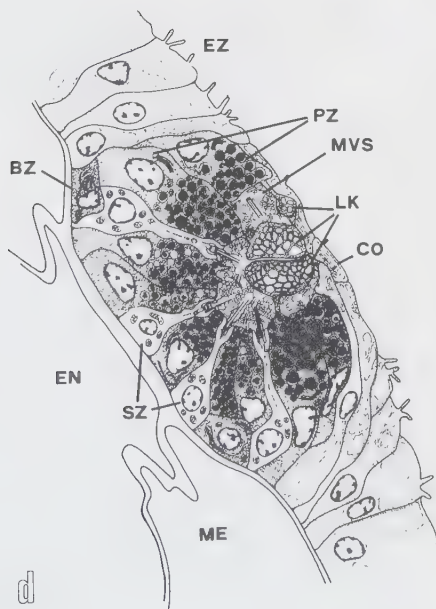
a



b



c



d

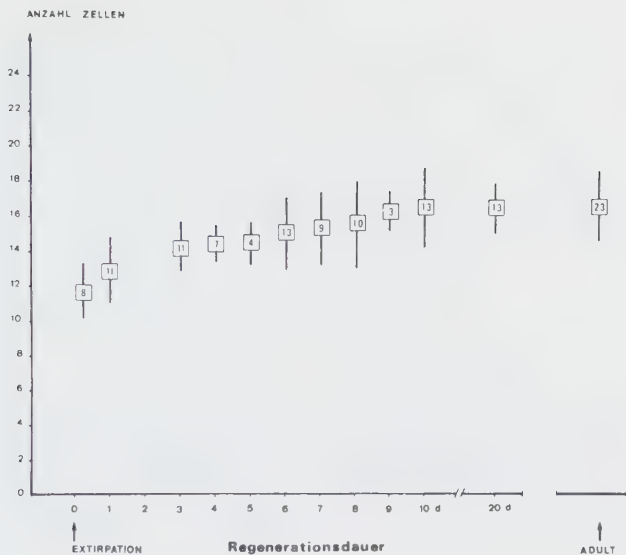
ABBILDUNG 3

Abb. 4 - 5: Quantitative Erfassung der am Aufbau des Ocellus beteiligten Zellen anhand der auf histologischen Medianschnitten durch die Augenanlage bzw. durch das ausdifferenzierte Auge festgestellten Zellzahlen.

Abb. 4: Gesamtzahl der in Ocellus- Medianschnitten ausgezählten Zellen (Ordinate) im Verlauf des Regenerationsgeschehens (Abszisse).
 = Durchschnittswert mit Standardabweichung. Die Zahl im Kästchen gibt die Menge der ausgezählten Präparate an.

Abb. 5: Zahl der in Medianschnitten von regenerierenden Ocellen festgestellten Sinneszellen (SZ) und Pigmentzellen (PZ) mit den zugehörigen Linsenkörpern (LK). Die Zahlen in den Mittelwertsymbolen entsprechen der Anzahl der ausgezählten Präparate bzw. Ocellen.

4



7-PZ

2-SZ

■-LK

5

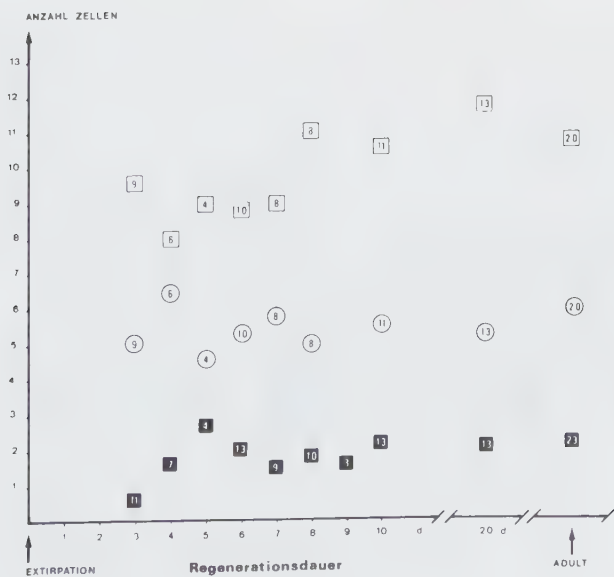
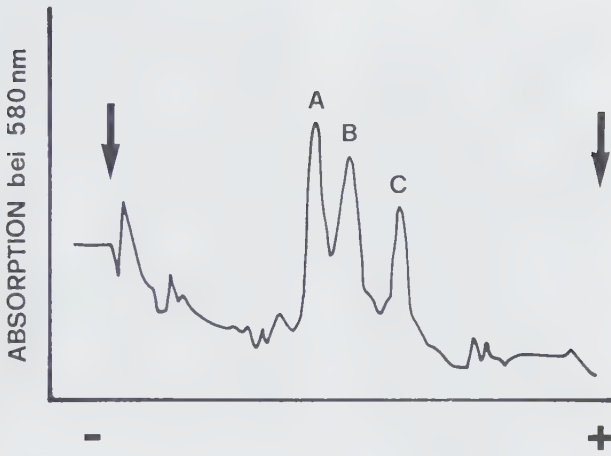


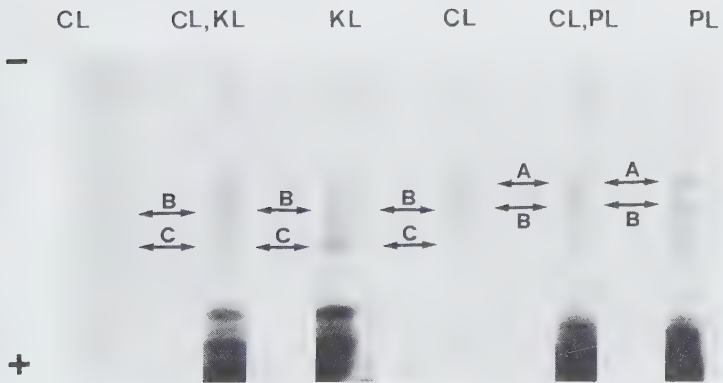
Abb. 6: Photometerkurve (Densitometer DD2) eines SDS Mikropolyacrylamidgels (7%), mit dem die Probe von Ocellen (Retina und Linsenkörper) von Cladonema radiatum elektrophoretisch aufgetrennt wurde. Die Bezeichnungen (A, B, C) der Extinktionsmaxima entsprechen den 3 Banden A, B und C auf dem Mikrogel (vergl. Abb. 7, CL). Die Pfeile markieren die Begrenzungen des Trenngels.

Abb. 7: SDS Mikropolyacrylamidgel (7%) in dem die Extrakte von Ocellen von Cladonema (CL) den Linsenproteinen von Pleurodeles waltl. (Amphibia, PL) bzw. von Rindern (Mammalia, KL) sowie Gemischen (v/v = 1:1) von CL, KL und CL, PL elektrophoretisch gegenübergestellt sind. (A- C = Bezeichnung der mit Coomassie Brilliant Blue (R-250) kenntlich gemachten Banden).

6



7



- Abb. 8: Geschlechtsreife Meduse von Cladonema radiatum Duj. MA= Manubrium; OC= Ocellus; RA= Radiärkanal; RI= Ringkanal; TE= Tentakel; UM= Umbrella.
- Abb. 9: Seitenansicht des am oberen Tentakelansatz lokalisierten Ocellus. EK= Ektodermis; ME= Mesogloea; OC= Ocellus; TE= Tentakel.
- Abb. 10: Rasterelektronenmikroskopische Aussenansicht des Ocellus. BR= Bulbusrand; CO= Cornea; FL= Flagellum; MI= Mikrovilli.
- Abb. 11: REM- Aufnahme der Mikrovilli im Randbereich der Cornea (vergl. Abb. 21).
- Abb. 12: REM- Aufnahme der Flagellen- Basis an dem epithelialen Randbereich des Ocellus. FL= Flagellum; MI= Mikrovilli.
- Abb. 13: Medianhorizontaler Semi- Dünnschnitt durch den Bulbus und den Tentakel der Meduse von Cladonema radiatum. CO= Cornea; EK= Ektodermis; EN= Entodermis; LK= Linsenkörper; ME= Mesogloea; OC= Ocellus; RE= Retina.

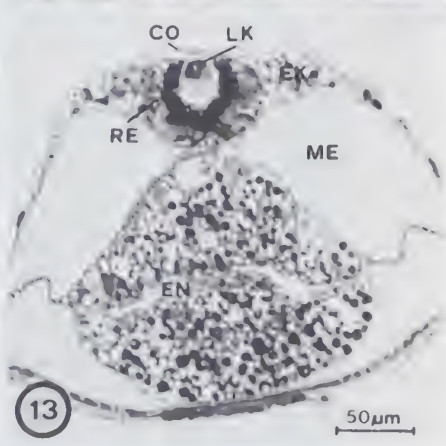
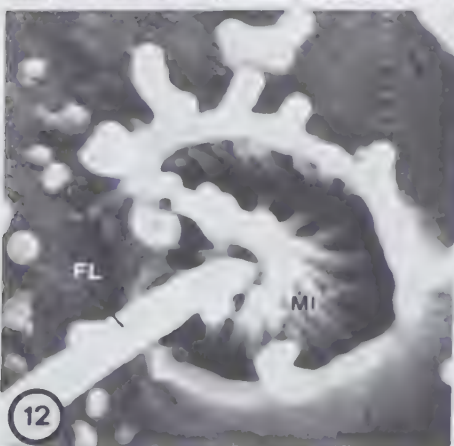
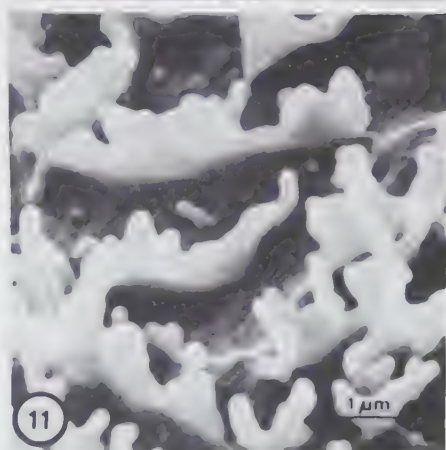
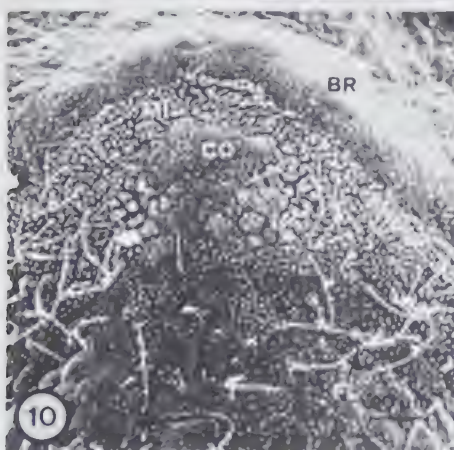
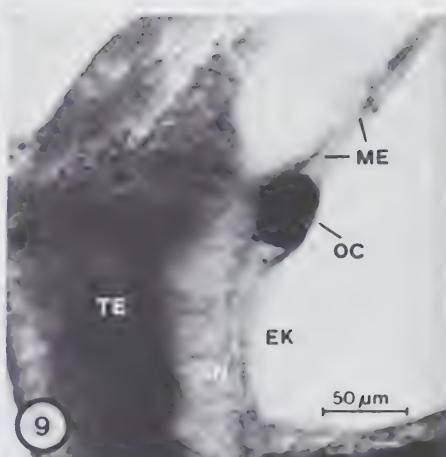
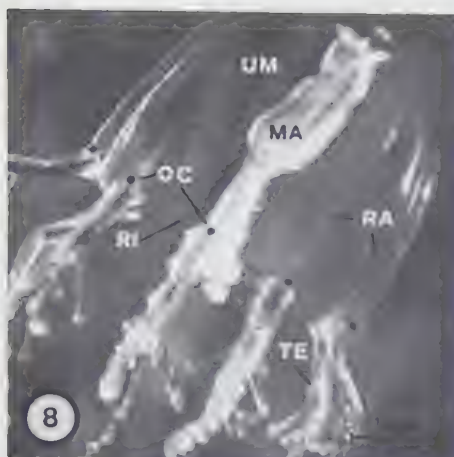


Abb. 14: Elektronenmikroskopischer Medianschnitt durch das ontogenetische Entwicklungsstadium D des Ocellus. BZ= Basalzelle; CO= Cornea; EK= Ektoderm; EN= Entoderm; LK= Linsenkörper; ME= Mesogloea; PZ= Pigmentzelle; SZ= Sinneszelle. (Vergr. 4'500x)

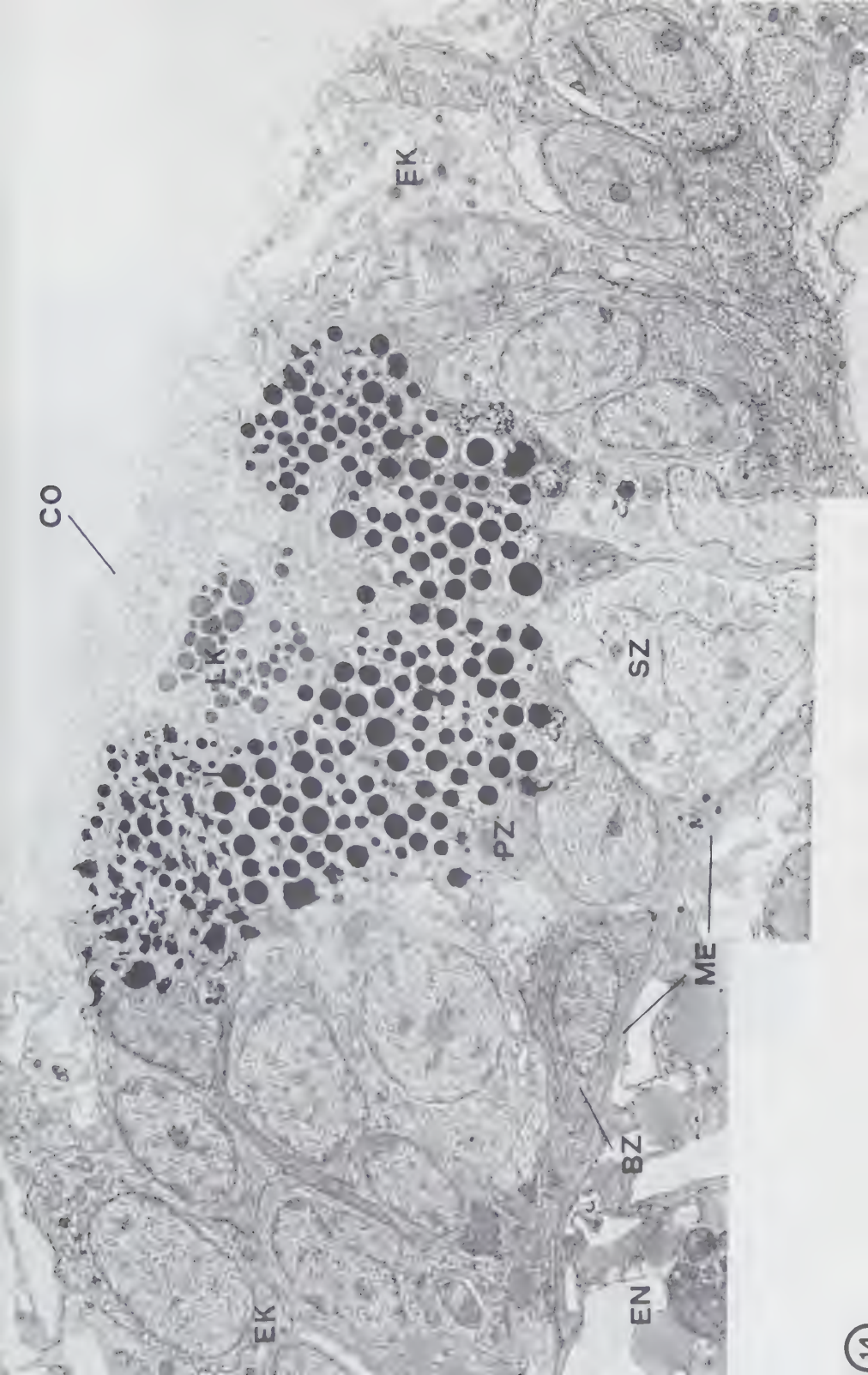


Abb. 15 - 17: Elektronenmikroskopische Medianschnitte durch das ontogene-
tische Entwicklungsstadium C des Ocellus.
CZ= Corneazelle; M= Mitochondrium; LK= Linsenkörper; PZ= Pig-
mentzelle; VA= Vakuolen, als plattgedrückte Membranschleifen
zu erkennen.

Abb. 15: Peripherer Bereich der die Cornea bildenden Epithelzellen (CZ).
(Vergr. 22'500x)

Abb. 16: Cornea- bildende Epithelzellen (CZ) in dem über der Linse (LK)
liegenden, zentralen Bereich. (Vergr. 20'250x)

Abb. 17: Aufeinandertreffen von peripheren und zentralen Plasmaberei-
chen (Pfeil) der die Cornea bildenden Epithelzellen (CZ).
(Vergr. 17'250x)

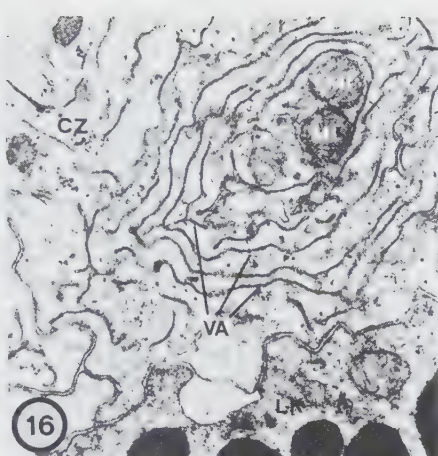
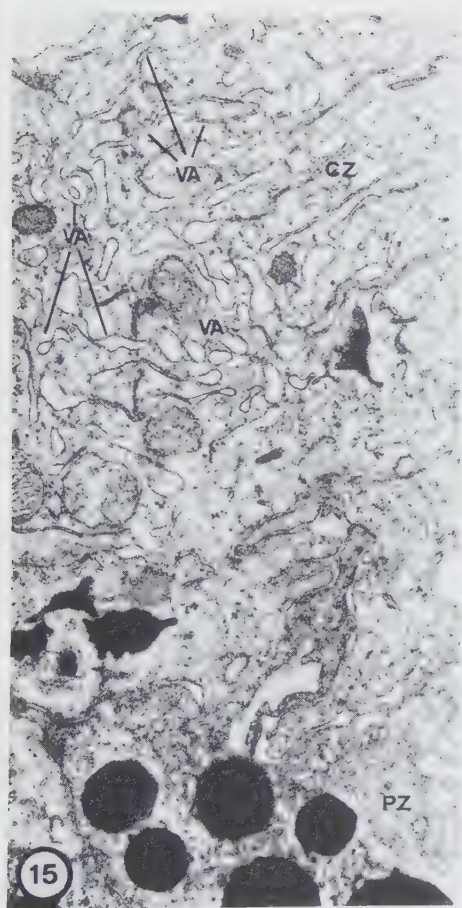


Abb. 18 - 19: Ontogenetische Differenzierung des Ocellus.

Abb. 18: Elektronenmikroskopischer Medianschnitt durch die peripheren, an die Ocellus- Anlage (Stadium D) angrenzenden, bereits stark vakuolisierten Epithelzellen. EZ= Epithelzellen; ME= Mesogloea; NU= Nukleus; VA= Vakuole. (Vergr. 12'000x)

Abb. 19: Diktyosomen (DK) der im Randbereich des Ocellus (Stadium D) stark vakuolisierten Epithelzellen. Seitlich abgeplattete Vakuolen (VA) legen sich an die Zellmembran. (Vergr. 24'000x)

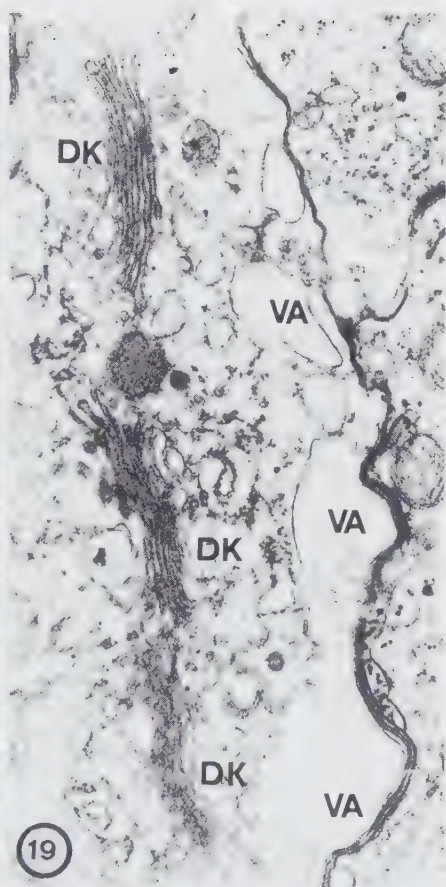
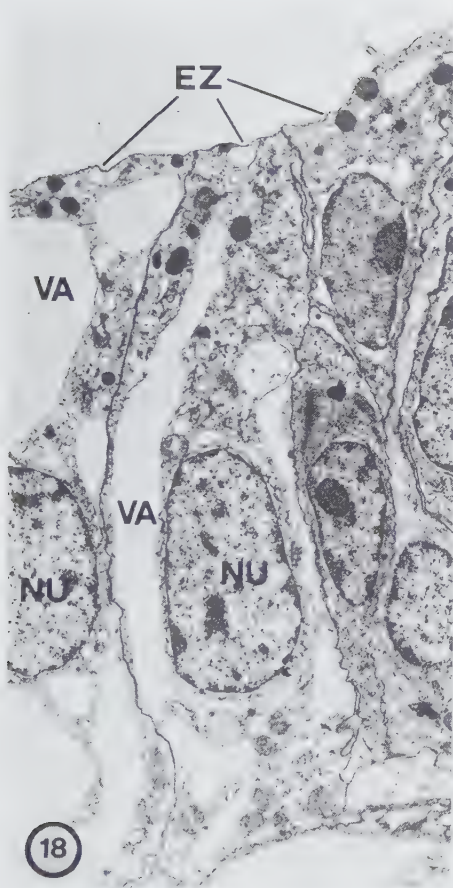


Abb. 20 - 25: Elektronenmikroskopische Medianschnitte durch den Ocellus während des regenerativen Differenzierungs geschehens.

Abb. 20: Zentraler Cornea- Bereich eines 4 Tage alten Augenregenerates. CI= Cilium; CZ= Corneazelle; MI= Mikrovilli; VA= Vakuole. (Vergr. 9'000x)

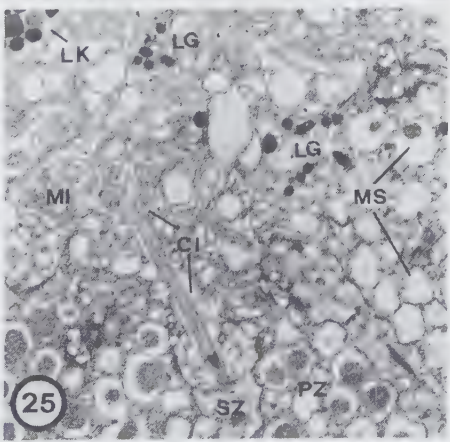
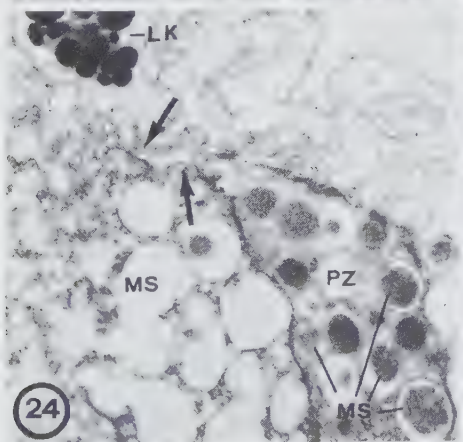
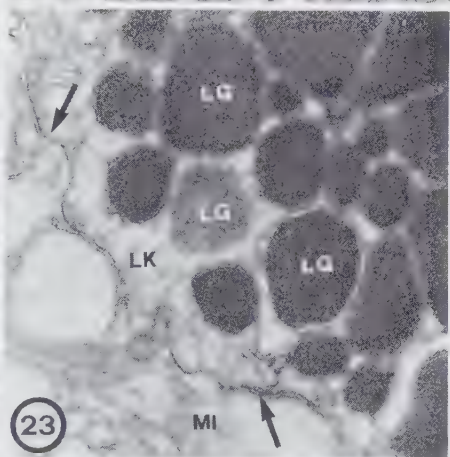
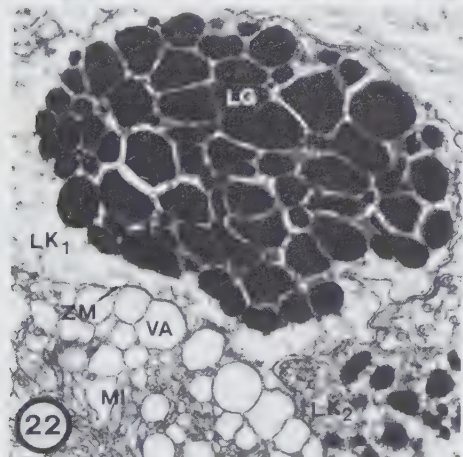
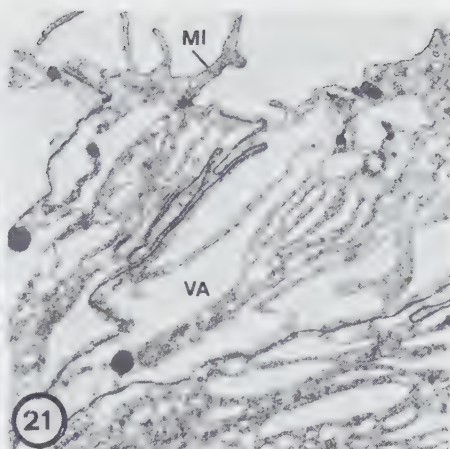
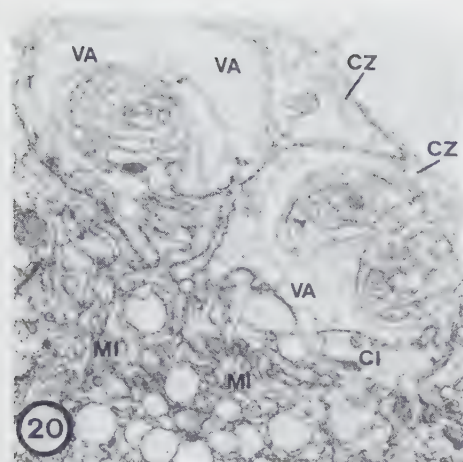
Abb. 21: Peripherer Cornea- Bereich eines 3 Tage alten Augenregenerates. Die lateralen, an den Ocellus angrenzenden Epithelzellen zeigen bereits eine ausgeprägte Vakuolisierung (VA). MI= Mikrovilli. (Vergr. 6'750x)

Abb. 22: Zwei Untereinheiten (LK_1 und LK_2) von Pigmentzellen, welche die Linse des Ocellus aufbauen und die von der Zellmembran (ZM) der ihr zugehörenden Pigmentzellen umgeben sind. (VA= Vakuolen im Bereich apikal der Rezeptor- Schicht). 7 Tage altes Augenregenerat. LG= Linsengranula; MI= Mikrovilli im Bereich der Rezeptor- Schicht. (Vergr. 12'000x)

Abb. 23: Die Linsengranula (LG) des Linsenkörpers (LK) eines 10 Tage alten Augenregenerates sind von der Zellmembran (Pfeil) der Pigmentzelle umschlossen. MI= Mikrovilli der Rezeptor- Schicht. (Vergr. 37'500x)

Abb. 24: Plasmabrücke (Pfeil) in einem 6 Tage alten Augenregenerat zwischen der Pigmentzelle (PZ) und deren distaler Plasmaportion, die den Linsenkörper (LK) aufbaut. MS= Melanosom. (Vergr. 10'500x)

Abb. 25: Uebersicht der Mikrovilli (MI)- Region der Photorezeptoren eines 6 Tage alten Augenregenerates. Die distalen Cilien (CI) und Mikrovilli (MI) der Sinneszellen (SZ) stossen bis weit gegen den Linsenkörper (LK) vor. Der Gehalt an eingelagertem Melanin (MS) in den Vakuolen (VA) der Pigmentzellen (PZ) ist unterschiedlich. LG= Linsengranula, die einzeln oder gruppenweise in den distalen Regionen der Pigmentzellen zu finden sind. (Vergr. 7'500x)



- Abb. 26: Ausschnitt einer Pigmentzelle (PZ) eines 3 Tage alten Augenregenerates, die basal der Mesogloea (ME) aufliegt und in ihrem dunklen Cytoplasma elektronenoptisch dichtes Material (P) neben Mitochondrien (MI) und rauhem endoplasmatischem Reticulum (ER) aufweist. EN= Entodermis; NU= Nukleus; SZ= Sinneszelle. (Vergr. 12'000x)
- Abb. 27: Basaler Cytoplasmabereich von 2 benachbarten Sinneszellen (SZ) eines 4 Tage alten Augenregenerates mit lipidartigen Tropfen (L) und granulären, dunklen Körperchen (K). (Vergr. 7'500x)
- Abb. 28: Elektronenoptisch dunkle Einschlüsse (E) im distalen Bereich der die Cornea bildenden Epithelzellen (CZ) im ontogenetischen Entwicklungsstadium D. LG= Linsengranula; LK= Linsenkörper. (Vergr. 18'750x)
- Abb. 29 - 31: Elektronenmikroskopische Abbildungen zur Morphogenese der Pigmentgranula im basalen Cytoplasmabereich der Pigmentzelle.
- Abb. 29: Ausschnitt aus dem apikal des Kerns gelegenen Cytoplasmabereich der Pigmentzelle (PZ) im ontogenetischen Entwicklungsstadium C. DK= Diktyosomen; MI= Mitochondrium; MS= Melanosom; P= Elektronenoptisch dunkle Synthese-Produkte. (Vergr. 22'500x)
- Abb. 30: Verschiedene Formen von Pigmenteinschlüssen, wie sie im basalen Cytoplasmabereich der Pigmentzelle (PZ) im ontogenetischen Entwicklungsstadium D gefunden werden. SZ= Sinneszelle. (Vergr. 13'500x)
- Abb. 31: Melanosom (MS) im basalen Cytoplasmabereich einer Pigmentzelle (PZ) im ontogenetischen Entwicklungsstadium B, das von kleinen Vesikeln (VK₁) umgeben ist, welche optisch leer erscheinen. Dicht daneben befinden sich Diktyosomen (DK), die elektronenoptisch dichtes Material in Vesikeln (VK₂) enthalten. ER= endoplasmatisches Reticulum. (Vergr. 22'500x)

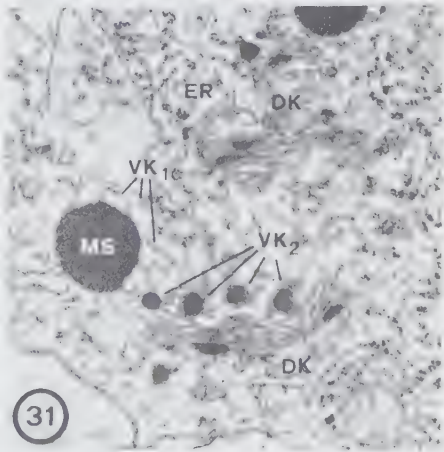
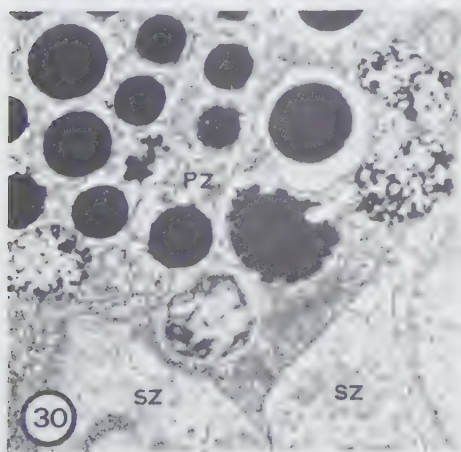
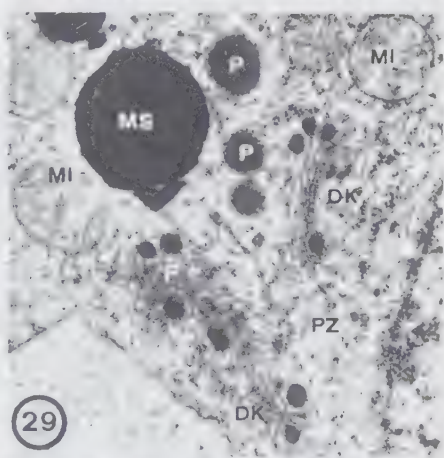
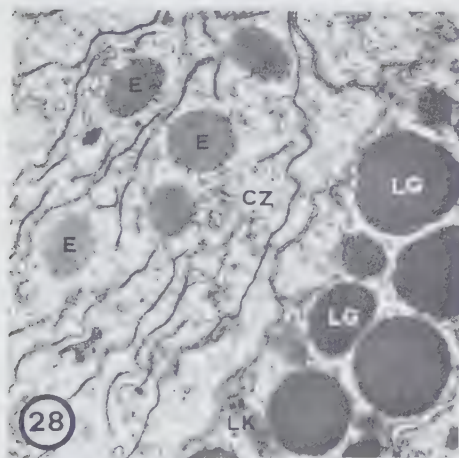
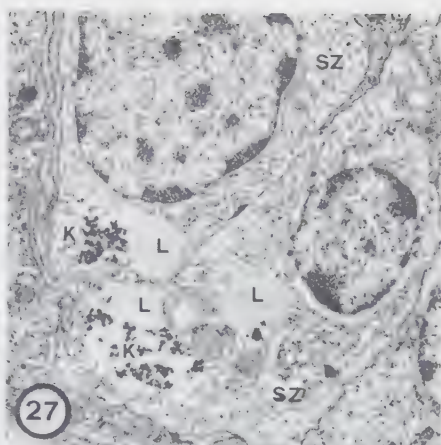
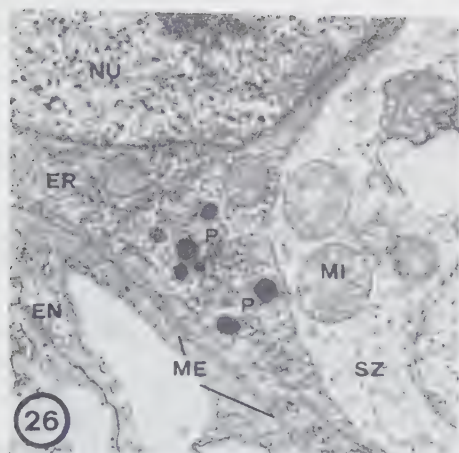


Abb. 32 - 33: Elektronenmikroskopische Medianschnitte durch einen Ocellus im ontogenetischen Entwicklungsstadium C.

Abb. 32: Die distale Portion einer Pigmentzelle (PZ), welche die Linsengranula (LG) beinhaltet, ist mit der kernhaltigen basalen Plasmaportion der Pigmentzelle durch eine Cytoplasmabrücke (Pfeil) verbunden. CO= Cornea; SZ= Sinneszelle. (Vergr. 12'000x)

Abb. 33: Die Linsengranula (LG), die ursprünglich aus dem zentralen Cytoplasmabereich der Pigmentzelle stammen, sind einzeln oder in Gruppen in der distalen Plasmaportion der Pigmentzelle anzutreffen. CI= Cilium der Sinneszelle; MS= Melanosom. (Vergr. 26'250x)

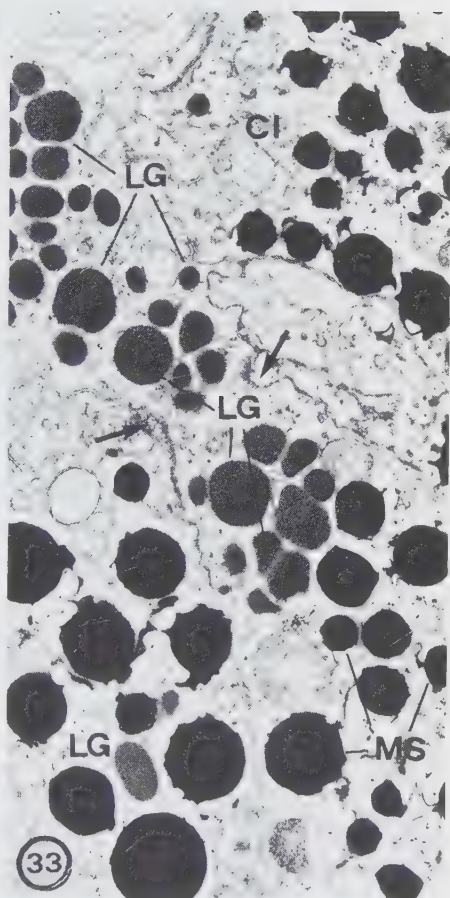
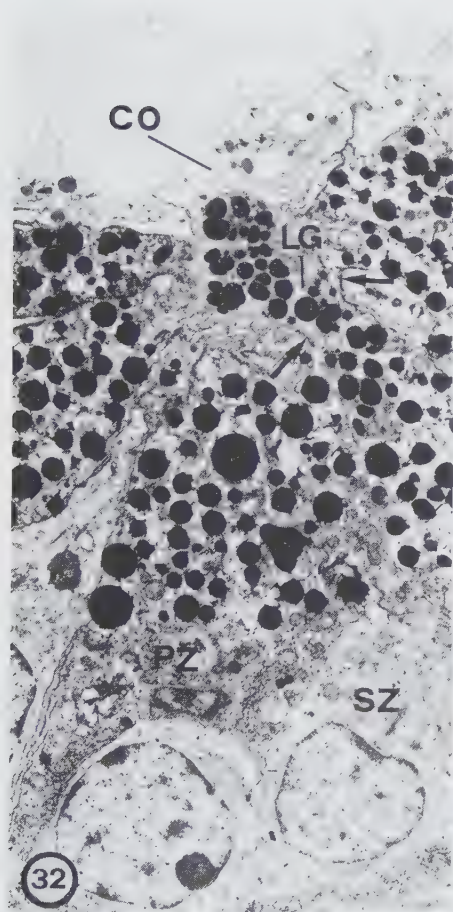


Abb. 34 - 35: Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Mediansagittal- Schnitten durch den Ocellus ausdifferenzierter Medusen von Cladonema radiatum nach Silberimprägnation der Praemelosomen und Melanosomen.

Abb. 34: In den melaninhaltigen Vakuolen der Pigmentzellen (PZ), den Melanosomen (MS) und Praemelosomen, werden die Silberkörner (SK) als elektronenoptisch dunkle Körper sichtbar. Die Vakuolen der Linsengranula (LG) der Linsenkörper dagegen zeigen keine Reduktion der ammoniakalischen Silberlösung. (Vergr. 7'500x)

Abb. 35: Im Kontrollexperiment finden wir keine Silberkörner in den Melanosomen (MS) der Pigmentzellen (PZ). LG= Linsengranula. (Vergr. 6'000x)

Abb. 36 - 37: EM- Aufnahmen von Mediansagittal- Schnitten durch den Ocellus ausdifferenzierter Medusen von Cladonema radiatum, welchen unter histochemischen Bedingungen DOPA als Substrat für die Melaninsynthese in den Praemelosomen vorgegeben wurde.

Abb. 36: Uebersicht nach dem Kontrollexperiment, in welchem DOPA mit einem Zusatz von 10mM KCN zum Medium verabreicht wurde. Keine Reaktion in den Praemelosomen und Melanosomen (VA). LG= Linsengranula; PZ= Pigmentzelle. (Vergr. 4'500x)

Abb. 37: DOPA- Oxydase- Reaktion in Vesikeln (VK) nahe der Diktyosomen (DK) und in Vakuolen (VA), die in der Pigmentzelle (PZ) apikal des Zellkerns liegen. (Vergr. 36'000x)

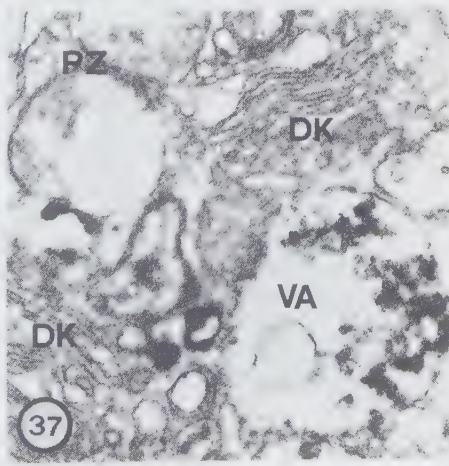
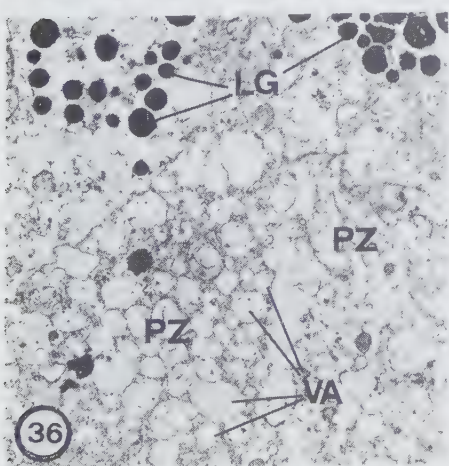
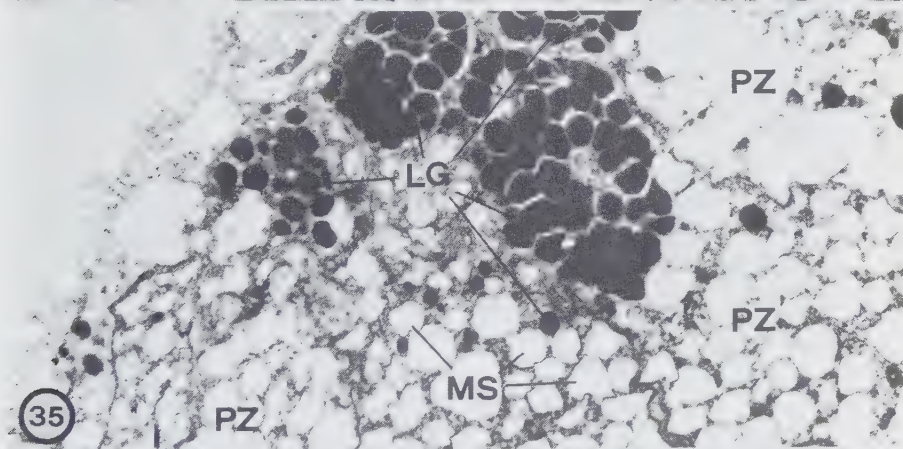
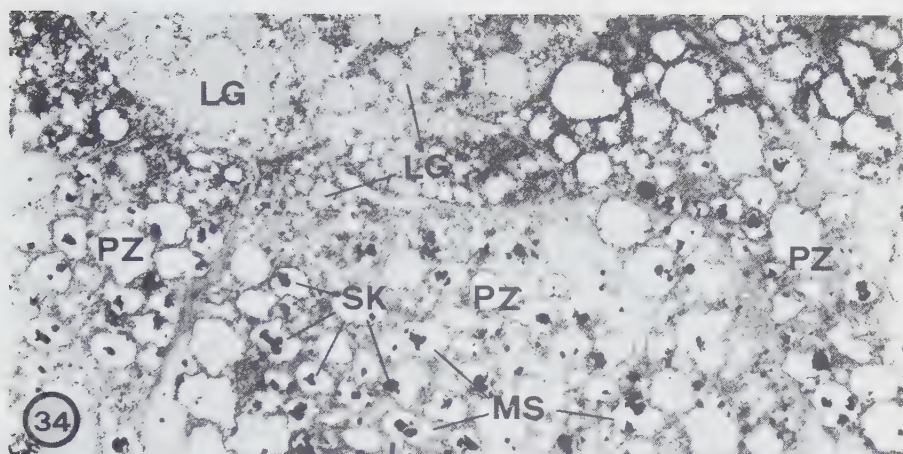


Abb. 38 - 39: Abbildungen von Paraffinschnitten (2- 3µm Dicke), welche median durch den Ocellus freischwimmender Medusen von Cladonema radiatum Duj. führen, nach der Inkubation von tLP- Antikörper und FITC Anti- Rabbit IgG.

CO= Cornea; EK= Ektodermis; LK= Linsenkörper; RE= Retina, bestehend aus Pigment-und Sinneszellen. (Vergr. 900x)

Abb. 38: a) Fluoreszenz- Mikroskopie des Ocellus. Der Linsenkörper (LK) zeigt eine positive Reaktion, d.h. er fluoresziert.

b) Gleiches Präparat wie a im Durchlicht (Fluotar Objk. 100) zur Identifikation der histologischen Strukturen bzw. zur Lokalisation der fluoreszierenden Komponenten.

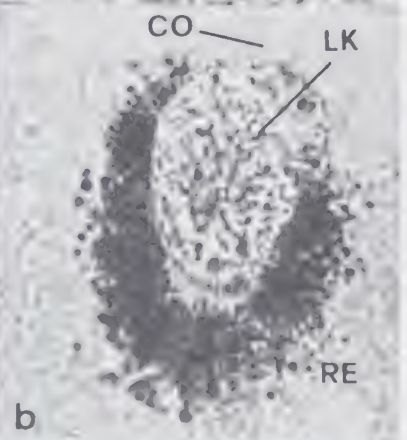
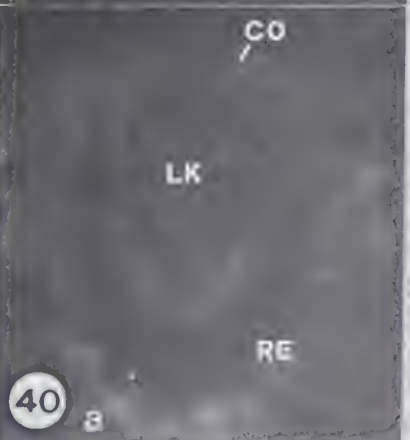
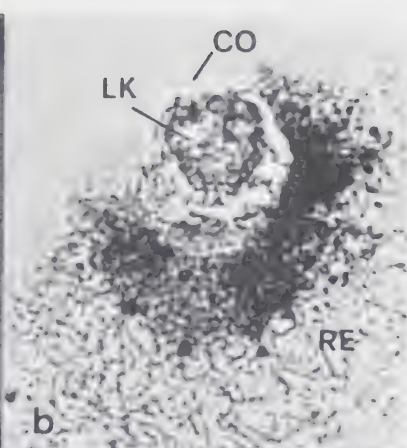
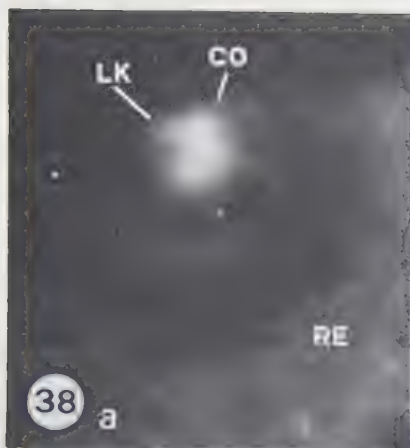
Abb. 39: a) Fluoreszenz- Mikroskopie des Ocellus. Der Linsenkörper (LK) zeigt eine positive Reaktion.

b) Gleiches Präparat im Durchlicht.

Abb. 40: Entsprechende Präparate wie in Abb. 38 und 39 wurden in Kontrollexperimenten mit unspezifischen γ - Globulinen überschichtet und in FITC Anti- Rabbit IgG inkubiert. (Vergr. 1080x)

a) Fluoreszenz- Mikroskopie des Ocellus. Der Linsenkörper (LK) zeigt eine negative Reaktion, d.h. die Linse des Ocellus fluoresziert nicht.

b) Gleiches Präparat im Durchlicht.



C U R R I C U L U M V I T A E

von Christian Weber, geboren am 21. Dezember 1948 in Aarau, Bürger von Egliswil und Aarau im Kanton Aargau (Schweiz).

- | | |
|-------------|--|
| 1966 - 1970 | Kantonales Lehrerseminar Aarau;
Primarlehrerpatent |
| 1970 - 1975 | Biologiestudium an der Universität Zürich
mit Zoologie im Hauptfach, Botanik, Chemie,
Geographie und Anthropologie im Nebenfach. |
| 1975 - 1979 | Assistent am Zoologischen Institut der
Universität Zürich. |

An der Universität Zürich besuchte ich die Vorlesungen und Praktika bei den folgenden Dozenten:

R. Bachofen, E. Batschelet, J. Biegert, M. Birnstiel, H. Boesch, H. Burla, P. S. Chen, H. R. Christen, C. D. K. Cook, P. Endress, C. H. Eugster, G. Furrer, E. Hadorn, H. Haefner, H. Hediger, H.-R. Hohl, E. Jungen, H. Kishimoto, St. Kubik, E. Kubli, H. Kummer, B. Nievergelt, R. Nöthiger, H. Oswald, D. Rast, O. Rohweder, J. Schlittler, V. Schmid, H. Schmid, M. Schüep, F. Schwegler, M. Steffen, P. Tardent, E. Thomas, H. Tobler, H. Wanner, R. Wehner, Ch. Weissmann, K. Wilson, O. Wootli, V. Ziswiler.

Die vorliegende Arbeit entstand unter der Leitung von Prof. Dr. P. Tardent am Zoologischen Institut der Universität Zürich.

